

République Algérienne Démocratique
et Populaire
Ministère de l'Enseignement Supérieur
et la Recherche Scientifique
Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire

الجمهورية الجزائرية الديمقراطية الشعبية
وزارة التعليم العالي و البحث العلمي
المدرسة الوطنية العليا للبيطرة



*En vue de l'obtention du diplôme de Doctorat Es-Sciences
En Sciences Vétérinaires*

Filière viande en Algérie :

*Étude de prévalence, profil d'antibiorésistance et
caractérisation moléculaire des souches de Staphylococcus aureus
isolées dans des saucisses crues de type "Merguez", en Algérie.*

Réalisée & présentée par :

Soutenue le : **26/01/2020**

Dr. Amina HACHEMI

Commission de jury

Président de jury	Pr. TEMIM S.	Professeur	ENSV-Alger
Examineur	Pr. AYACHI A.	Professeur	ISV-Batna
Examineur	Pr. HELEILI N.	Professeur	ISV-Batna
Directrice de thèse	Pr. AIT-LOUDHIA KH.	Professeur	ENSV-Alger
Invités d'honneur	Pr. HARHOURA KH.	Professeur	ENSV-Alger
	Pr. BOLNOT J.M.	Professeur	ENV-Alfort

Année universitaire : 2019/2020

REMERCIEMENTS

Mes remerciements infinis sont adressés à **Allah**, le Clément, le Miséricordieux de m'avoir donné le courage, la force, la volonté et surtout la patience de vivre jusqu'à me voir « Docteur d'état ».

Je tiens à remercier tout particulièrement ma directrice de thèse **Pr. Khatima AIT-LOUDHIA**, de m'avoir dirigé, conseillé, et m'orienté avec beaucoup de patience, en me laissant une grande liberté de pensée. Aussi, pour ses encouragements, soutiens et sa confiance en moi dans les moments difficiles. Veuillez, chère Maître, trouvé dans ce modeste travail tout mon respect, ma profonde gratitude, ma sincère reconnaissance, et l'expression de ma haute considération.

Je remercie chaleureusement **Pr. Jean-Marc ROLAIN**, de m'avoir accueilli au sein de son laboratoire, encadré et dirigé avec beaucoup de rigueur scientifique quant à la partie moléculaire de ce présent travail. Je vous remercie pour vos orientations, conseils, qui ont été d'un apport précieux pour la réalisation de ce projet de thèse. Veuillez recevoir, Monsieur, l'assurance de ma considération distinguée.

Ma reconnaissance particulière s'adresse également au **Pr. Didier RAOULT** Directeur de l'unité de recherche sur les Maladies Infectieuses et Tropicales Emergentes « URMITE », Faculté de Médecine, Marseille, France ; pour son accueil dans son prestigieux laboratoire, qui m'était d'une grande utilité pour mener à bien mes expérimentations. Qu'il voie dans cet aboutissement le témoignage de ma grande gratitude. Merci à toute l'équipe de recherche et à tout le personnel du laboratoire que j'ai été amenée à côtoyer durant mes stages à l'URMITE en commençant par Lynda, sans pour autant oublier Edgathe ainsi que Rym et Meriem.

C'est aussi un plaisir autant qu'un devoir, d'exprimer ma reconnaissance au **Professeur Mohamed Fatih DENIA**, Chef de service du laboratoire de microbiologie du CHU Salim Zmirli, de m'avoir accueilli à bras ouverts au sein de son laboratoire. Je veux également exprimer ma reconnaissance à tout le personnel du laboratoire que j'ai été amenée à côtoyer.

Je remercie également **Pr. Miriem AISSI**, la Directrice de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, de m'avoir toujours soutenue par ses orientations, et conseils. Je vous remercie Madame, pour toute la sagesse que vous projetez. Veuillez croire en mon profond respect et ma sincère reconnaissance.

Mes remerciements s'adressent également aux membres du jury,

Pr. Soraya TEMIM pour l'intérêt qu'elle a accordé à mon sujet de recherche, et de m'avoir fait le grand honneur de présider le jury de ma soutenance. C'était un de mes rêves, et voilà que l'enseignante que j'ai toujours admirée préside mon jury de Doctorat. Veuillez croire, Madame, à mes sincères sentiments de gratitude.

Pr. Amar AYACHI A., Pr. Nouzha HELEILI pour l'intérêt qu'ils ont accordé à mon sujet de recherche et pour m'avoir fait l'honneur d'accepter l'examen de ma thèse de Doctorat. Je garderai à toujours l'image que vous m'aviez transmis ; de personnes aimables, gentilles et bien accueillantes. Veuillez accepter, Madame, Monsieur, l'expression de mes sentiments les plus dévoués.

Mes remerciements s'adressent à mes invités d'honneur ; **Pr. BOLNOT J.M.**, du département d'Hygiène alimentaire, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maison d'Alfort, France et au même titre à **Pr. HARHOURA Kh.** de l'Ecole Nationale Vétérinaire d'Alger, Algérie, de m'honorer par leur présence. Messieurs, je vous remercie d'avoir marqué par vos enseignements mon parcours professionnel. Une attention particulière à l'icône de l'école, Mr. HARHOURA ; l'enseignant et le Maître ; qui m'a appris le vrai sens du dévouement.

A **Mr KHELF M., Mr B. BELKESSA S.**, je vous témoigne à tous les deux mes meilleurs sentiments, mes vifs remerciements et ma profonde gratitude pour vos conseils, encouragements continuels et soutien moral dans les moments difficiles.

Mes remerciements les plus sincères s'adressent aussi à toute l'équipe de la bibliothèque de l'ENSV d'Alger, pour leur professionnalisme et la qualité de service qu'ils offrent, et à leur tête la Directrice **Mme L. BENACHOUR**. Particulièrement, **Nassima**, et **Yacine**.

Egalement, à l'équipe du laboratoire d'HIDAOA dans lequel nous avons réalisé une grande partie de notre travail expérimental. Une pensée à toi **Louiza**. Un remerciement particulier à mes étudiantes **Safaa, Chahrazed, Houda** et **Lyza** pour leur aide.

À vous mes cher (e) s ami (e) s d'ici et de l'autre rive, je vous aime et je vous remercie pour tout le soutien morale, l'aide et toutes vos ondes positives, chacun (e) par son prénom.

Aussi, je tiens à remercier ma deuxième famille professionnelle, qui était plus que compréhensive. Une attention particulière à **Dr. BOUCHAALA, Dr. BOUCEDJRA, Dr. KEBOUR**, et **Dr. CHOUIKRAT** et à tous mes collègues et amis journalistes.

Enfin, je remercie tous ceux qui, de près ou de loin, ont contribué à la réalisation de ce travail.

DEDICACES

لا الحَمْدُ في ذا ولا ذاك لي
ولكن لك الحَمْدُ في ذا وذاك

يَا اللَّهُ

مشينها خُطى كُتِبَت علينا
ومن كُتِبَت عليه خُطى مشاها

A toi mon Cher Papa ; A toi ma Chère Mama ;

Source de ma détermination, secret de ma force.

Recevez à travers cette thèse, toute ma gratitude, mon estime et mes
profonds sentiments d'amour et de fierté d'être votre fille.

J'espère ne jamais vous décevoir !

A vous mes Chers frères

Mohamed-Mehdi & Salah Eddine ;

Vous êtes mes alliés et ma fierté

À vous tous,

Je dois le mérite pour ce que je suis devenue aujourd'hui.

Je vous remercie de tout mon cœur d'avoir toujours cru en moi.

Puisse Dieu le tout puissant nous préserve les uns les autres.

« Ameen »

A chacun sa manière de vivre les difficultés...

Je vous aime tellement ♥

The emergence and re-emergence of antibiotic multi-resistant foodborne bacteria are one of the most important source of concern worldwide. Recently, *Staphylococci spp.* and *Macrococcus* have received increasing attention due to their possible potential of enterotoxigenicity and dissemination of resistance genes found on mobile genetic elements. The present study aimed firstly to investigate the diversity and antimicrobial susceptibility profil of strains isolated from raw sausages in Algeria using MALDI-TOF MS. All strains were subjected to PCR real time and confirmed by PCR standard to detect the *mecA/mecC* genes. Secondly, a consumer sausage purchasing survey was designed to investigate potential risk factors that have a significant association with the occurrence of foodborne poisoning among sausage consumers' behavior and its relationship with independent variables. Also, to explore vulnerable groups at risk. Thirdly, to assess the evolution of the cases and estimate behaviors awards antibiotics use after food-borne poisoning for targeted sick/hospitalized Algerian consumers

A total more than 300 butcheries from thirteen departments (Daira) of Algiers with more than 50 municipalities were included randomly in these studies to collect raw sausage samples and to distribute 1500 structured questionnaires to meat consumers. Our three studies were conducted at the same time, between June 2016 and june 2019. Sausage samples were taken once per butchery to estimate the prevalence of *Staphylococci spp.* and *S. aureus* contamination and therefore deduct the quality assessment of raw sausage (Merguez) sold in Algiers, Algeria. All isolated strains were tested for their antimicrobial resistance. Furthermore, questionnaires were distributed and used to collect information on various aspects of sausage consumption, foodborne disease and their evolution, consumption habits and antibiotics use behaviors. The data collected were analyzed with different statistical approaches, such as the Chi-square test and the odds ratio (OR) univariable logistic model. All the risk factors were analyzed by studying their association with the occurrence of consumers who claimed to have food poisoning after consuming sausage.

The overall prevalence of *S. aureus* contamination from sausages was 25.22% (n=58/230). Over 83.33% of strains showed resistance to at least one of the antibiotics tested. The most important was for tetracycline (58%) followed by fosfomycin (33%), penicillin G (25%), and oxacillin (36%). Moreover, the multiple antibiotic resistance (MAR) index include 20 profiles with MAR >0.2. Of a total of 84 strains included in this study, 73 (86.90%) strains were identified *Staphylococci spp.* including *S. saprophyticus* (32.87%), *S. aureus* (28.76%), *S. sciuri* (10.95%), *S. xylosus* (8.21%), *S. gallinarum* (5.47%), *S. vitulinus* (4.10%), and *S. equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, with 2.73% followed by *S. warneri* (1.36%). The rest represented *Macrococcus caseolyticus* with 13.09% (n=11/84). The MSP dendrogram revealed 4 distinct clusters according to an arbitrary cut-off at the distance level of 500. All *S. aureus* strains were severely resistant against B-Lactamines (93.65%). For *S. saprophyticus*, fusidic acid (62.50%) and doxymycin (70.83%) were the most resistance recorded. Thus, *M. caseolyticus* strains were revealed resistance profile against cefoxitin/erythromycin (63.63%), and clindamycin/tetracyclines (54.54%). There was no resistance to vancomycin. We have detected *mecA* gene in 5 methicillin-resistant strains confirmed by PCR, with prevalence of 23.80%. Overall, 66.67% of *S. aureus* isolates were positive for at least one of seven enterotoxins genes identified and 19.05% harboured two to four enterotoxin genes. The predominant ones were *seb* (38.09%); followed by *sea*, *see*, *seg*, *she* with (14.28%), and *sed* with (9.52%).

No isolates harboured enterotoxin genes *sec* were enregistered. *S. aureus* and *Macrococcus caseolyticus* isolates found in Algiers raw sausage had enterotoxin genes with predominance of *seb* and *see*, respectively and demonstrate that not only *S. aureus* but also *S. haemolyticus*, *S. sciuri* and *M. caseolyticus* were considered like potential hazard for consumers. More, a combination of *sea* and *see* genes was recorded with 14.28% among strains isolates.

For the first survey, out of the 440 meat consumers, 22.16% revealed having food poisoning after sausage consumption. The risk factors recorded were: Consumption outside of home (24.30%, OR=1.769, $p=0.040$), during the summer season (24.30%, OR=1.159) and during lunch (26.50%, OR=1.421). The second one showed that out of the 504 sausage consumers, 22.15% revealed having food-borne poisoning after sausage consumption. Over 53.60 % of sick consumers were hospitalized. The risk factors recorded were: The ages of 18 and 40 years (89.69% OR=1.323; [0.64-2.73]), males (33.00%; OR=1.275; [0.785-2.070]), consumers living with their families (84.54%; OR=1.387; [0.753-2.554]) and consumers that had children (22.68%; OR=1.62; [0.155 -0.320]) which were more affected and more likely to get food-borne diseases after sausage consumption. In addition, young ($p=0.00002$; 76.29%), woman giving birth ($p=0.00001$; 25.77%) and pregnant (50.52%) were found to be vulnerable consumers with high risk factors of OR=0.35, OR=2.021, and OR=1.43, respectively. Thus, immuno-deficiency consumers (42.27%; OR=3.361) were found to be the leading risk factor recorded among vulnerable consumers. For antibiotic use behavior, out of 97 sick consumers, 52.58% ($n=51/97$; $p=0.003$; OR=1.965) had taken antibiotics by themselves, and 41.24% ($p=0.008$; OR=1.87) had interrupted the antibiotics treatment. Similarly, highest self-medication were recorded among hospitalized consumers (71.15%; $n=37/97$) with OR= 7.45 ($p=0.00001$). Regrettably, the majority (28.85%) declared interrupt the therapeutic protocol after medical guidance with OR=9.96 ($p=0.0001$).

Our studies provide for the first time informations about prevalence of *S. aureus* contamination in Merguez sold in Algiers, and the high multidrug resistance among *Staphylococci* isolates. Thus, findings demonstrate that not only *S. aureus* but also *Staphylococci spp.* were considered like potential hazard for consumers and highlights the risk of transmission of *Staphylococci spp.*, *Macrococcus caseolyticus* and MRSA strains carrying different antimicrobial resistance and virulence genes in raw sausage chain, represents a potential threat for the spread of these pathogens in the community and should be regarded emphasizing the role of the human and food animal as reservoirs of bacterial resistance to reduce and prevent the spread of resistant strains, robust management and monitoring of antibiotic use should be established.

Finally, it can be concluded that raw sausage must be consumed with precaution for vulnerable groups at risk (YOPIs) and the application of the HACCP system is essential either in butcherries producing sausage and/or slaughterhouses. Therefore, public education programs should be developed, especially to areas of antibiotics use and to change certain consumption habits of Algerian consumers to ensure food safety.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, raw sausages, virulence genes, consumers, quality assessment, foodborne, risk factors.

L'émergence et la réémergence de bactéries multi-résistantes d'origine alimentaire sont l'une des principales sources de préoccupation dans le monde. Récemment, *Staphylococci* spp. et *Macrococcus* ont reçu une attention particulière en raison de leur possible potentiel d'entérotoxinogénèse et de dissémination des gènes de résistance trouvés sur les éléments génétiques mobiles. La présente étude visait à étudier tout d'abord le profil de sensibilité aux antibiotiques et la diversité à l'aide de MALDI TOF MS, des souches isolées de saucisses crues en Algérie. Toutes les souches ont été soumises à la PCR en temps réel et ont été confirmées par PCR standard pour détecter les gènes *mecA/mecC*. Deuxièmement, une enquête sur la consommation des Merguez a été conçue pour étudier les facteurs de risque potentiels en relation avec les comportements de consommation qui ont une relation significative avec la survenue de toxi-infections alimentaires. Aussi, pour explorer les groupes vulnérables. Troisièmement, pour évaluer l'évolution des cas et estimer les comportements d'utilisation des antibiotiques utilisés après une toxi-infection alimentaire déclarée, aussi bien pour les malades que les consommateurs hospitalisés.

Au total, plus de 300 boucheries de treize (13) départements (Daira) d'Alger avec plus de 50 municipalités ont été incluses aléatoirement dans nos études pour ; collecter des échantillons de saucisses crues et distribuer 1500 questionnaires aux consommateurs de viande rouge. Nos trois études ont été menées en même temps, entre Juin 2016 et Juin 2019. Des échantillons de saucisses ont été prélevés à raison d'une fois par boucherie pour estimer la prévalence de *Staphylococci* spp. et le niveau de contamination par *S. aureus* pour arriver à évaluer la qualité des saucisses crues (Merguez) vendues à Alger, Algérie. Toutes les souches isolées ont été testées pour leur résistance aux antibiotiques. En outre, des questionnaires ont été distribués et utilisés pour collecter des informations sur divers aspects de la consommation de saucisses, des toxi-infections alimentaires et leur évolution ; également sur les habitudes de consommation et des comportements d'utilisation des antibiotiques après l'épisode malade. Les données recueillies ont été analysées avec différentes approches statistiques, telles que le test de Chi-deux et le modèle logistique univariable Odds ratio (OR). Tous les facteurs de risque ont été analysés en étudiant leur association avec la survenue de toxi-infections alimentaires suite à la consommation des Merguez.

La prévalence globale de la contamination par *S. aureus* dans les saucisses crues vendues était de 25.22%. Plus de 83.33% des souches ont montré une résistance à au moins un des antibiotiques testés. Les plus importants étaient pour la tétracycline (58%), suivie par la l'oxacilline (36%), la fosfomycine (33%), et la pénicilline G (25%). De plus, l'indice de multi-résistance aux antibiotiques (MAR) comprend 20 profils de résistance avec MAR>0.2. Aussi, et sur un total de 84 souches incluses dans la deuxième étude, 73 (86.90%) souches ont été identifiées *Staphylococci* spp. dont *S. saprophyticus* (32,87%), *S. aureus* (28,76%), *S. sciuri* (10,95%), *S. xylosus* (8,21%), *S. gallinarum* (5,47%), *S. vitulinus* (4,10%) et *S. equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, avec 2,73% suivi de *S. warneri* (1,36%). Le reste représentait *Macrococcus caseolyticus* avec 13.09% (n=11/84). Le dendrogramme MSP a révélé 4 clusters distincts selon un seuil de distance de 500. Toutes les souches de *S. aureus* étaient sévèrement résistantes aux bêta-lactames (93.65%).

L'acide fusidique (62.50%) et la doxymycine (70.83%) étaient les molécules auxquels *S. saprophyticus* a eu plus résistance. Les souches de *M. caseolyticus* ont révélés un profil de résistance contre la céfoxitine/érythromycine (63.63%) et la clindamycine/tétracycline (54.54%). Il n'y avait pas de résistance à la vancomycine. Nous avons détecté le gène *mecA* dans 5 souches résistantes à la méthicilline confirmées par PCR, avec une prévalence de 23.80%. Dans l'ensemble, 66.67% des isolats de *S. aureus* étaient positifs pour au moins un des sept gènes d'entérotoxines identifiés et 19,05%

hébergeaient de deux à quatre gènes d'entérotoxines. Les prédominants étaient *seb* (38,09%); suivie par *sea*, *see*, *seg*, *she* avec (14,28%), et *sed* avec (9,52%). Aucun isolat contenant des gènes d'entérotoxine *sec* n'a été enregistré. Les souches de *S. aureus* et de *M. caseolyticus* isolées des saucisses crues avaient des gènes d'entérotoxine avec une prédominance de *seb* et *see*, respectivement. Non seulement *S. aureus* mais aussi *S. haemolyticus*, *S. sciuri* et *M. caseolyticus* étaient considérés comme un danger potentiel pour les consommateurs. De plus, les *S. non-aureus* une combinaison de gènes *sea* et *see* a été enregistrée avec 14,28% parmi les souches isolées.

Pour la première enquête, sur les 440 consommateurs de viande, 22,16% ont révélé avoir une toxi-infection alimentaire après consommation de saucisse. Les facteurs de risque enregistrés étaient: la consommation hors domicile (24,30%, OR = 1,769, $p = 0,040$), pendant la saison estivale (24,30%, OR = 1,159) et pendant le déjeuner (26,50%, OR = 1,421). La deuxième étude a montré que sur les 504 consommateurs de saucisses, 22,15% ont révélé avoir une toxi-infection alimentaire après la consommation de saucisses, avec plus de 53,60% des consommateurs malades qui ont été hospitalisés. Les facteurs de risque: le jeune âge (89,69% OR = 1,323), les hommes (33,00%; OR = 1,275), les consommateurs vivant avec leurs familles (84,54 %; OR = 1,387) et les consommateurs avec enfants à charge (22,68%; OR = 1,62). De plus, les jeunes ($p = 0,00002$; 76,29%), les femmes qui ont accouché ($p = 0,00001$; 25,77%) et les femmes enceintes (50,52%) se sont révélées être des consommatrices vulnérables présentant des facteurs de risque élevés de RO = 0,35, OR = 2,021, et OR = 1,43, respectivement. Les consommateurs d'immunodéficiences (42,27%; OR = 3,361) sont la principale catégorie à risque. Pour le comportement d'utilisation d'antibiotiques, 52,58% ($n = 51/97$; $p = 0,003$; OR = 1,965) avaient fait recours à l'automédication et 41,24% ($p = 0,008$; OR = 1,87) avaient interrompu l'antibiothérapie. De même, la pratique d'automédication a été importante (71,15%; $n = 37/97$) avec OR = 7,45 ($p = 0,00001$) parmi les consommateurs qui ont eu tendance à l'hospitalisation. Malheureusement, la majorité (28,85%) a déclaré interrompre le protocole thérapeutique après avis médical avec OR = 9,96 ($p = 0,0001$).

Nos études fournissent pour la première fois des informations sur la prévalence de la contamination par *S. aureus* des Merguez vendus à Alger, et la forte multi-résistance des souches de *Staphylococci*. Ainsi, les résultats montrent que non seulement *S. aureus* mais aussi *Staphylococci* spp. qui ont été considérés comme un danger potentiel pour les consommateurs et met en évidence le risque de *Staphylococci* spp., *Macrococcus caseolyticus* et les SARM ce qui représente une vraie menace pour la propagation des différents gènes de résistance et de virulence dans la communauté à travers la source alimentaire.

Ce qui devrait être pris au sérieux, avec l'accent mis sur le rôle de l'homme et de l'animal en tant que réservoirs de résistance bactérienne pour réduire et prévenir la propagation des souches résistantes, une gestion et une surveillance solides de l'utilisation des antibiotiques devraient être établies. Nous pouvons conclure que la saucisse crue doit être consommée avec précaution pour les groupes vulnérables à risque (YOPI) et que l'application du système HACCP est essentielle soit dans les boucheries produisant des saucisses et / ou des abattoirs. Aussi, des programmes d'éducation et de sensibilisation du public (les personnes à risque) devraient être développés, en particulier pour les habitudes de consommation et l'usage des antibiotiques.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, saucisses crues, gènes de virulence, consommateur, qualité, toxi-infection alimentaire, facteurs de risque.

TABLE DES MATIERES

<i>Remerciements</i>	I
<i>Dédicaces</i>	IV
<i>Abstract</i>	VI
<i>Résumé</i>	VIII
<i>Table des matières</i>	X
<i>Liste des tableaux</i>	XV
<i>Liste des figures</i>	XVI
<i>Liste des annexes</i>	XVIII
<i>Liste des abréviations</i>	XIX

INTRODUCTION GENERALE 1

PREMIERE PARTIE : REVUE DE LA LITTERATURE

I. Classification des Staphylocoques	5
II. Le <i>S. aureus</i> dans l'histoire	7
III. Habitat	8
IV. Caractérisation de <i>S. aureus</i>	9
IV.1. Caractérisation phénotypique de <i>S. aureus</i>	9
IV.1.1. Caractères morphologiques	9
IV.1.2. Caractères cultureux	9
IV.1.3. Caractères biochimiques	10
IV.2. Caractérisation génotypique de <i>S. aureus</i>	12
IV.2.1. Le core du génome	12
IV.2. 2. Les éléments génétiques mobiles (EMGs)	12
IV.2.3. Les supports génétiques des EMGs	12

V. Facteurs de virulence et pathogénie de <i>S. aureus</i>	15
V.1. Composants de la surface	16
V.1.1. Exo-polysaccharides capsulaires	16
V.1.2. Acides teichoïques (Polysaccharides A)	16
V.1.3. Peptidoglycane	16
V.1.4. Facteurs d'adhésion et d'invasion	17
V.2. Les substances élaborées par <i>S. aureus</i>	18
V.2.1. Enzymes	18
V.2.2. Les toxines	20
A. La leucocidine de Panton Valentine (<i>Pvl</i>)	20
B. Les toxines pyrogènes	21
C. Les superantigènes	21
C.1. Exfoliatines ou épidermolysines	21
C.2. Toxine (<i>TSST-1</i>)	22
C.3. Les Entérotoxines Staphylococciques	22
VI. Méthodes de diagnostiques	24
VI.1. Méthodes de distinction entre espèces de Staphylocoques	24
VI.1.1. Méthodes biochimiques « Galerie API Staph »	24
VI.1.2. Méthode spectrale « MALDI-TOF MS »	24
VI.1.3. Méthode génotypique « Application de la PCR »	25
VI.1.3.1. Méthode d'amplification d'ADN par PCR : Typage <i>agr</i>	26
VI.1.3.2. Méthodes fondées sur le séquençage	26
VI.2. Méthodes de détection moléculaire des entérotoxines	27
VII. L'antibiorésistance de <i>S. aureus</i> et son évolution	27
VII.1. L'émergence des SARM	28
VII.1.1. Chez l'homme	30
A. SARM-associé aux hôpitaux (SARM-AH)	30
B. SARM-associé à la communauté (SARM-AC)	30
VII.1.2. SARM-associé au bétail (SARM-AB)	31
VII.2. L'apparition de résistance à la Vancomycine (SARV)	31
VIII. Le pouvoir pathogène de <i>S. aureus</i>	32
VIII.1. Les infections suppuratives superficielles et profondes	32
VIII.1.1. Les infections chez l'homme	32

VIII.1.2. Les infections chez l’ovin et le bovin	33
VIII.2. Les infections non suppuratives d'origine toxinique	33
VIII.2.1. Le syndrome de choc toxique staphylococcique	33
VIII.2.2. La toxine de « <i>Panton et Valentine</i> »	33
VIII.2.3. Le syndrome d'exfoliation généralisée	34
VIII.2.4. Les toxi-infections alimentaires à <i>S. aureus</i> (TIAC)	34
VIII.2.4.1. Conditions requises pour une TIA à <i>S. aureus</i>	34
VIII.2.4.2. Le risque pour le consommateur	35
VIII.2.4.3. Les produits carnés et les intoxications staphylococciques	36
IX. Les saucisses crues de type Merguez	37
IX.1. Définitions	37
IX.2. Composition	37
A. La viande	37
B. La matière grasse	37
C. Les boyaux	38
D. Les additifs	38
IX.3. La présentation à la vente	38
IX.4. La contamination des saucisses crues à <i>S. aureus</i>	39

DEUXIEME PARTIE : APPROCHE METHODOLOGIQUE

I. Lieu d’études	43
II. Etude de la qualité des Merguez et contamination par <i>S. aureus</i>	43
II.1. Corpus, période et type de prélèvements	43
II.2. Méthodologie de travail	45
II.2.1. Analyse bactériologique et antibiogramme	45
II.2.2. Etude moléculaire	48
III. Enquêtes épidémiologiques	52
III.1. La 1 ^{ère} enquête épidémiologique	52
III.2. La 2 ^{ème} enquête épidémiologique	52

TROISIEME PARTIE : REVUE DES TRAVAUX DE RECHERCHE

Filière viande en Algérie : La qualité des saucisses crues de type « Merguez » et les facteurs de risque liés aux toxi-infections alimentaires.

Article I. Étude épidémiologique des saucisses en Algérie: Prévalence, évaluation de la qualité et résistance aux antibiotiques des isolats de *Staphylococcus aureus* et les facteurs de risque associés aux habitudes de consommation affectant les toxi-infections alimentaires.

Section 1. Avant-propos

53

Section 2. Epidemiological study of sausage in Algeria : Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer's habits affecting foodborne poisoning.

Article II. Enquête transversale sur les toxi-infections alimentaires causées par les saucisses en Algérie: prévalence, facteurs de risque, catégories de personne à risque, tendance d'évolution et comportements d'utilisation d'antibiotiques.

Section 1. Avant-propos

55

Section 2. A cross-sectional survey of risk factors among Algerian sausage consumers related to sausage foodborne poisoning : Risk categories, hospitalisation, and patients behaviors.

Article III. Diversité et caractérisation moléculaire de *Staphylococcus* spp. isolés des saucisses crues, hébergeant les gènes *pvl*, *tsst-1*, *mecA* et entérotoxines (*sea*, *seb*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*) en Algérie.

Section 1. Avant-propos

58

Section 2. Diversity and molecular characterization of *Staphylococcus* spp., isolates from raw sausages « Merguez », harboring *pvl*, *tsst-1*, *mecA*, and enterotoxins genes (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*) in Algeria.

CONCLUSION GENERALE & PERSPECTIVES

62

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

64

ANNEXE

MES COMMUNICATIONS SCIENTIFIQUES

1^{ère} COMMUNICATION SCIENTIFIQUE

The IAFP European Symposium on Food Safety, 25-27 April 2018 in Stockholm, Sweden. Poster presentation : "The First Characterization of the Diversity of Staphylococcus Strains Using MALDI-TOF MS and Detection of MRSA Strains Isolated from "Raw Sausage" in Algeria,"

2^{ème} PRODUCTION SCIENTIFIQUE

13^{ème} Journées Internationale des sciences Vétérinaires « Sécurité alimentaire : Enjeux et Stratégies », le 01 & 02 Décembre 2018, Alger, Algérie. Communication orale : La première caractérisation de la diversité des espèces de Staphylococci isolées depuis des saucisses crues « Merguez » en Algérie, par MALDI TOF MS.

3^{ème} PRODUCTION SCIENTIFIQUE

Eurasian Congress on Molecular Biotechnology (ECOM 2019), 19-21 September 2019, in Trabzon, Turkey. Oral communication : « The first molecular detection of enterotoxins A B C D E G H in Staphylococcus aureus isolated from "raw sausage" in Algeria.

4^{ème} PRODUCTION SCIENTIFIQUE

14^{ème} Journées Internationale des sciences Vétérinaires « Pathologies infectieuses animales », le 15 et le 16 Novembre 2019, Alger, Algérie. Communication orale : « Epidemiological study of sausage in Algeria : The risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning »

LISTE DES TABLEAUX

Tableau n° (1) :	Support génétique de certains gènes d'entérotoxines staphylococciques	29
Tableau n° (2) :	Conditions de survie, de croissance et de toxinogénèse de <i>S. aureus</i>	36
Tableau n° (3) :	Synthèse des travaux menées sur la contamination de viande et dérivées par <i>S. aureus</i>	39

LISTE DES FIGURES

Figure n°(1) :	Observations microscopiques du <i>Staphylococcus aureus</i>	09
Figure n°(2) :	La répartition géographique des sites d'échantillonnage	43
Figure n°(3) :	Analyse bactériologique des Merguez selon la norme ISO 6888-1	44
Figure n°(4) :	Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur géloses	45
Figure n°(5) :	Test d'agglutination au latex Pastorex Staph Plus®	46
Figure n°(6) :	Identification biochimique par galerie API Staph®	46
Figure n°(7) :	Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « Salim Zmirli »	47
Figure n°(8) :	Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « Marseille »	48
Figure n°(9) :	Préparation de la plaque MALDI-TOF et analyses sur Biotyper	48
Figure n°(10) :	Le robot automatique EZ1 ; (QIAGEN-BioRobot® EZ1, Tokyo, Japon)	49
Figure n°(11) :	Appareil de PCR quantitative en temps réel, piloté par un ordinateur	50
Figure n°(12) :	Détection du gène <i>mecA</i> par qPCR	50
Figure n°(13) :	Amplification en chaîne par polymérase dans un thermocycleur	51
Figure n°(14) :	Imageur moléculaire pour la lecture du gel d'électrophorèse	51

Figure n°(1) :	La répartition géographique des sites d'échantillonnage	09
Figure n°(2) :	Analyse bactériologique des Merguez selon la norme ISO 6888-1	08
Figure n°(3) :	Colonies de <i>Staphylococcus aureus</i> sur géloses	09
Figure n°(4) :	Test d'agglutination au latex Pastorex Staph Plus®	10
Figure n°(5) :	Identification biochimique par galerie API Staph®	10
Figure n°(6) :	Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « Salim Zmirli »	11
Figure n°(7) :	Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « Marseille »	12
Figure n°(8) :	Préparation de la plaque MALDI-TOF et analyses sur Biotyper	12
Figure n°(9) :	Le robot automatique EZ1 ; (QIAGEN-BioRobot® EZ1, Tokyo, Japon)	13
Figure n°(10) :	Appareil de PCR quantitative en temps réel, piloté par un ordinateur	14
Figure n°(11) :	Détection du gène <i>mecA</i> par qPCR	14
Figure n°(12) :	Amplification en chaîne par polymérase dans un thermocycleur	15
Figure n°(13) :	Imageur moléculaire pour la lecture du gel d'électrophorèse	15
Figure n°(14) :	Observations microscopiques du <i>Staphylococcus aureus</i>	22

LISTE DES ANNEXES

<u>Annexe n° (1) :</u>	Dendrogramme de nos souches de <i>S. aureus</i> isolées des Merguez	12
<u>Annexe n° (2) :</u>	Liste des principaux facteurs de virulence et régulation par Agr	28
<u>Annexe n° (3) :</u>	Caractéristiques majeures des entérotoxines staphylococciques	36
<u>Annexe n° (4) :</u>	Schéma des principales études utilisant le MALDI-TOF en routine	38

LISTE DES ABREVIATIONS

ADN	Acide désoxy-ribo-nucléique
ARN	Acide ribonucléique
Aw	Activity water
CA-MRSA	Community acquired methicillin resistant <i>S. aureus</i>
CASFM	Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
CC	Complexe clonal
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
EGM	Eléments génétiques mobiles
g	Gramme
GC	Guanine Cytosine
GISA	Glycopeptides Intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
HIDAOA	Hygiène et Industrie des Denrées Alimentaires d'Origine Animale
ISO	International Organization for Standardization
kpb	Kilo paires de bases
Log₁₀ UFC/g	Unité logarithmique de microorganismes par gramme
LPS	Lipo-poly-saccharide
Mc Farland	Norme pour ajuster la turbidité des suspensions bactérienne
Mec A	Gène de résistance à la méticiline
Mec C	Gène de résistance à la méticiline
MLST	Multi locus sequence typing
OMS	Organisation Mondiale de santé
OR	Odds Ratio
pb	Paires de Bases
PCR	Polymerase chain reaction
pH	Potentiel hydrogène
PLP	Protéines liant pénicillines
PVL	Panton et Valentine leucotoxine

SaPI	Staphylococcal pathogenicity island
SARM	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline
SARV	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine
SASM	<i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la méticilline
SCC	Staphylococcal cassette chromosome
SCIN	Staphylococcal complement inhibitor
sea	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique A
seb	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique B
sec	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique C
sed	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique D
see	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique E
seg	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique G
seh	Gène codant pour l'entérotoxine staphylococcique H
SEI	Staphylococcal entérotoxine like
SEIAgs	Staphylococcal entérotoxine like superantigens
SSTT	Système de sécrétion de type trois
TIAC	Toxi-infection alimentaire collective
TSST	Toxines du syndrome de choc toxique
tsst-1	Toxic shoc syndrome toxin-1
TSST-1	Toxinc shoc syndrome toxin-1
UFC	Unités formant colonies
UFC	Unité formant colonie
VISA	Vancomycin intermediate <i>Staphylococcus aureus</i>
<i>agr</i>	Accessory gene regulator
<i>ccr</i>	Gène des recombinaases
<i>gyrA</i>	Gène de la gyrase
<i>mecA</i>	Gène de la résistance à la méticilline
<i>mecC</i>	Gène de résistance à la méticilline
<i>spa</i>	Gène de la protéine A
<i>sarT</i>	<i>Staphylococcus</i> accessory regulatorT
<i>sarG</i>	<i>Staphylococcus</i> surface protein G
<i>vSaa</i>	Variable <i>Staphylococcus aureus</i> alpha
<i>vSaβ</i>	Variable <i>Staphylococcus aureus</i> beta
<i>egc</i>	Enterotoxin gene cluster
<i>hla</i>	Hémolysine alpha

<i>hly</i>	Hémolysine beta
<i>hly</i>	Hémolysine gamma
<i>hly</i>	Hémolysine gamma variant
<i>lukSPV-lukFPV</i>	Leucocidine de Pantone Valentine
<i>lukE-lukD</i>	Leucocidine lukE-lukD
<i>lukM</i>	Leucocidine M
<i>vwb</i>	Von Willebrand
<i>efb</i>	Extracellular fibrinogen binding
<i>eap</i>	Extracellular adherence protein
<i>clfA et clfB</i>	Clumping factors A et B
<i>fmbpA et fmbpB</i>	Fibronectin binding protein
<i>arcC</i>	Carbamate kinase
<i>aroE</i>	Shikimate déshydrogénase
<i>glpF</i>	Glycerol kinase
<i>gmK</i>	Guanylate kinase
<i>pta</i>	Phosphate acétyltransférase
<i>tpi</i>	Triphosphate isomérase
<i>yqiL</i>	Acetyl coenzyme A acétyltransférase

INTRODUCTION GÉNÉRALE

INTRODUCTION GENERALE

“ The beginning is the most important part of the work”

— Plato

Depuis la nuit des temps, se nourrir est une nécessité vitale pour l'être humain particulièrement lorsqu'il s'agit de viande, le seul aliment accessible pendant toute l'année. Actuellement, le challenge est bien de nourrir “correctement” une population mondiale qui devrait atteindre les 9.7 Milliards en 2050 selon les prévisions démographiques des Nations Unies (ONU, 2019), ce qui requière le respect des principes de la sécurité alimentaire (FAO, 2018) ; et ainsi mettre la santé au cœur de toutes les politiques. Plus précisément, si la responsabilité politique est clairement identifiée, celle des scientifiques l'est également, par les craintes qui découlent de l'avancée technologique et la prise en compte de nouveaux risques ainsi que des crises alimentaires qui ont modifié le paysage mondial. Essentiellement, par le fait de s'interroger sur les moyens d'améliorer le niveau de qualité en renvoyant non seulement aux besoins alimentaires, mais également aux droits de l'homme à un produit conforme et salubre. Une condition qui est, de plus en plus exigée, face aux nouveaux enjeux de la qualité sous l'égide du développement durable qui nécessite l'installation des procédures de contrôle, et des systèmes d'assurance qualité au sein des circuits de production des denrées alimentaires, pour arriver à évaluer les risques des filières de l'étable à la table.

La filière des viandes rouges en Algérie compte une production nationale de 5,44 millions de quintaux en 2017 pour une valeur de 596 milliards DA (APS, 2018). Les « Merguez », dérivées des viandes, et produits de charcuteries sont une spécialité purement Nord-Africaine connue pour son poids sociétal dans le mode de consommation Algérien (Hachemi et al., 2019) malgré le fait qu'elles soient véhicules de nombreuses maladies d'origine alimentaire chez les humains à cause des défauts d'hygiène (Dennai et al., 2001). Il s'agit d'une denrée alimentaire hautement périssable et dont la qualité hygiénique dépend, de la microflore qui provienne de l'animal lui-même ou dans 80% des cas, des contaminations croisées (Cartier & Moev, 2007). Une situation qui peut engendrer de graves problèmes sanitaires ; la plupart responsables des toxi-infections alimentaires.

A l'échelle mondiale, le *Staphylococcus aureus* est reporté comme étant la troisième plus grande cause de toxi-infections alimentaires (Beyene et al., 2017) et un agent pathogène commensal majeur à l'origine d'une grande variété de maladies chez l'homme et les animaux, avec un impact important sur la santé publique et le secteur de l'élevage (Rong, et al. 2017). Et ce, aussi bien par sa présence que par sa pathogénicité liée à divers facteurs de virulence susceptibles d'aggraver l'évolution clinique des infections à staphylocoques (Benito et al., 2015). Egalement, par sa capacité à produire une large variété d'entérotoxines incriminés dans 95% des toxi-infections alimentaires ; en plus de sa résistance aux conditions de pH et de salinité (Ed-Dra et al., 2018) dont la viande est particulièrement incriminée. En outre, entre 2016 et 2017, l'Algérie a enregistré plus de 15 233 cas de toxi-infection alimentaire avec 16 décès et des centaines de cas d'hospitalisation.

Au-delà des intoxications alimentaires, le staphylocoque doré très répandu dans la nature, et dans la population humaine saine, d'une manière permanente ou intermittente (Wertheim et al., 2005). Il est classé parmi les pathogènes majeurs de l'homme causant des infections nosocomiales et communautaires très diverses et peut être à l'origine d'un large éventail de troubles, des plus bénins au plus fatals aussi bien chez l'humain que chez l'animal (Antreoletti et al., 2009) et d'autant plus redoutable qu'il est très difficile à combattre à cause de sa virulence, son pouvoir épidémique et de sa résistance aux antibiotiques étant classé dans la liste des agents pathogènes prioritaires pour la recherche-développement de nouveaux antibiotiques (OMS, 2017).

Une situation qui a bouleversé l'épidémiologie de *S. aureus* mondialement, du fait de la prévalence élevée de nouvelles formes de résistance aux antibiotiques et l'émergence de souches multi-résistantes, qui cause annuellement 700 000 décès (OMS, 2019) élevant ainsi le taux des échecs thérapeutiques, surtout avec l'utilisation commune des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, et des multiples voies de transmission à l'homme entre autre les aliments d'origine animale et en particulier les viandes, ce qui alourdit le bilan de la morbidité et de la mortalité (Jamali et al., 2015). En Algérie la situation ne vaut pas mieux, car la fréquence des infections aux SARM a atteint 42% en 2007 aussi bien communautaires que nosocomiales (Antri et al., 2011) rendant la situation compliquée et le traitement lourd (Jackson et al., 2013).

A ces fins, l'éducation, la sensibilisation et la formation permanente du public restent indispensables mais toujours pas suffisantes dans le contexte national, où plus d'efforts doivent être fournis spécialement face à une absence de données Algériennes concernant l'épidémiologie de la consommation des viandes rouges en générale et des « Merguez » plus précisément mais aussi, par rapport aux comportements adoptés par la communauté étudiée.

Notre recherche est la première de son genre en Algérie concernant les saucisses crues « Merguez » malgré la multitude de travaux sur le *Staphylococcus aureus* dans les autres matrices alimentaires, aussi bien pour le volet bactériologique et caractérisation moléculaire que pour le volet épidémiologique où l'idée de se rapprocher des boucheries s'est vite imposée étant le premier point de contact avec les consommateurs. Récemment, des études sur l'isolement de *S. aureus* dans le lait des animaux mammiteux ont été réalisées, ainsi que dans plusieurs denrées alimentaires d'origine animale.

Pour toutes ces raisons, nous avons procédé à évaluer la qualité bactériologique à *S. aureus* des Merguez vendus en Algérie et les caractéristiques moléculaires des Staphylococques isolés depuis ces prélèvements préparés et vendus dans les différentes boucheries d'Alger; aussi ; l'épidémiologie de consommation de ce type d'aliment dans le contexte national et l'évolution des épisodes de TIAC causées suite à la consommation de viande rouge. Egalement, les facteurs de risque chez les consommateurs malades, les différentes catégories de personnes touchées ainsi que le comportement des patients.

Au cours de l'élaboration de notre projet de recherche qui s'enregistre dans un cadre d'une thèse de doctorat, nous nous sommes fixés des objectifs répartis en six (06) grands axes :

- ☑ **Le premier axe :** D'abord, établir un plan d'échantillonnage représentatif des boucheries analysées réparties sur un ensemble de communes des Daira d'Alger_Algérie. Puis, procéder à une récolte de prélèvements de saucisses crues de type Merguez préparées et vendues au niveau de ces mêmes boucheries.
- ☑ **Le second axe :** Isoler des *Staphylococcus spp.* Puis, identification phénotypique et dénombrement des souches de *Staphylococcus aureus* isolées ; afin d'estimer le niveau et les prévalences de contamination à *Staphylococcus aureus* des saucisses crues, préparées et vendues au niveau des boucheries sur Alger_ Algérie.
- ☑ **Le troisième axe :** Caractériser le profil de résistance aux antibiotiques des souches isolées.
- ☑ **Le quatrième axe :** Etudier la diversité microbienne des différentes espèces isolées dans les saucisses crues.
- ☑ **Le cinquième axe :** Caractériser le profil moléculaire et rechercher les facteurs de virulence des souches isolées de Staphylococques par q-PCR, et PCR Standard.
- ☑ **Le sixième axe :** Estimer les facteurs de risque liés à la consommation des Merguez sur la base de deux études épidémiologiques.

Notre manuscrit de thèse de doctorat Es-Sciences s'articule autour de trois (03) parties ; après une introduction générale en guise d'un état d'art, cette partie est consacrée à une revue de la littérature qui s'étale sur l'épidémiologie des Staphylocoques en générale et le *Staphylococcus aureus* plus précisément ; les facteurs de virulence et la pathogénie de ce germe ; ainsi que les problèmes sanitaires qui en découlent, en consacrant vers la fin un volet pour les saucisses crues de type « Merguez » étant la denrée alimentaire étudiée. La deuxième partie est une approche méthodologique où nous allons présenter notre problématique de recherche, les objectifs tracés et les principales méthodes utilisées, et ce dans les différents laboratoires, lieux de nos études scientifiques. La troisième partie est une revue des travaux de recherche élaborés au cours de ce projet de thèse est présentée sous forme de trois (03) sections relatives à nos articles scientifiques publiés et/ou en cours de publication.

Une dernière partie (Annexes de communications) que nous avons jugée intéressant de l'ajouter. Il s'agit du volet consacré aux différentes communications scientifiques qui ont découlé de ce projet de recherche et dont nous avons été amenés à communiquer dans diverses manifestations scientifiques.

1ère PARTIE

*REVUE
DE LA LITTÉRATURE*

REVUE DE LA LITTÉRATURE

"I am thankful for all of those who said NO to me.

It's because of them I'm doing it myself."

— Albert Einstein

Les staphylocoques, bactéries en grains « *kokkos* » et groupées en grappe de raisin « *Staphylos* » étaient isolées dès les années 1870 par Louis Pasteur. En 1883, c'est Ogston qui leur a nommé « Staphylocoque » (Chambeaud, 2012). Ce sont des cocci à Gram positif, immobiles, non sporulés, réunis en amas, aéro-anaérobies facultatifs, catalase positive, oxydase négative et fermentent les glucides (De Buyser, 1996).

Les trois genres de cocci à gram positif en amas, diffèrent par leur pourcentage (G+C) : *Staphylococcus* (30-39%), *Micrococcus* (65-75%) et *Planococcus* (45-52%). Les espèces appartenant à ces trois genres possèdent une catalase et se développent en aérobiose. Depuis 2002 et sur la base de l'analyse du gène codant « ARN ribosomal 16S », le genre *Staphylococcus* est classé dans la famille des *Staphylococcaceae* qui comporte 47 espèces et 24 sous-espèces (Brun et Bes, 2002 ; Stepan et al., 2004).

I. Classification des staphylocoques

Parmi les plusieurs types de classification de *S. aureus*, la plus utilisée est la classification de Bergey (Delarras, 2007). Toutefois, le critère de base reste la production de coagulase. C'est ainsi que l'on distingue deux (02) grands groupes de Staphylocoques (Beyene et al., 2017) :

☛ **Les Staphylocoques à coagulase positive (SCP) :** Généralement considérés comme les plus pathogènes dont le chef de file est *Staphylococcus aureus*, mais qui comprennent d'autres espèces comme *Staphylococcus hyicus* ou *Staphylococcus intermedius* (Bourgeois et al., 1996).

Récemment, deux espèces de *Staphylococcus* ont été découvertes : *Staphylococcus pseudintermedius* (Hermans et al., 2005), *Staphylococcus argenteus* and *Staphylococcus schweitzeri* (Tong et al., 2015) (Jiang et al., 2018).

☛ **Les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) :** Incapable de produire de la coagulase, ainsi réputés moins dangereux regroupant une vingtaine d'espèces (Cainaud, 2005). Nous citons ici, *S. saprophyticus* décrit comme agent pathogène opportuniste émergent et un contaminant fréquent des saucisses et des viandes crues (Leroy et al., 2010).

Chez l'animal, il a été isolé à partir d'écouvillons rectaux de carcasses de bovins et de porcs. Par contre, chez l'homme, le réservoir du *S. saprophyticus* est le tractus gastro-intestinal et urinaire (Coton et al., 2010; Mlaga et al., 2017). D'autres SCN sont principalement associées aux espèces dominantes dans la peau humaine et parfois isolées de la peau des animaux domestiques (Hosseinzadeh et Dastmalchi Saei, 2019). Des espèces telles que *S. xylosus*, *S. lentus*, *S. haemolyticus* et *S. warneri* qui sont couramment utilisées comme cultures de départ pour la fabrication de saucisses (Ouoba et al., 2019). Cependant, la présence de ces espèces dans les aliments doit être prise au sérieux en ce qui concerne une éventuelle contamination de l'inoculum de départ et / ou des améliorations du processus de fabrication des saucisses (Soares Casaes Nunes et al., 2015).

Concernant le *Staphylococcus argenteus* ainsi que *Staphylococcus schweitzeri*, ces derniers forment une nouvelle partie du complexe de *S. aureus* avec un potentiel entérotoxigénique (Jiang et al., 2018); (Wakabayashi et al., 2018) et semble être associée à des infections, mais aucun cas d'intoxication alimentaire n'a encore été signalé (Suzuki et al., 2017).

II. Le *S. aureus* dans l'histoire

Les premières descriptions des staphylocoques isolés à partir d'abcès datent de 1871. Mais ce sont l'Allemand Robert Koch (1878) et le Français Louis Pasteur (1880) qui ont décrit des grappes de coques dans du pus d'origine humaine (Fasquelle, 1974 ; Karthik, 2007). Plus tard, en 1883, Ogston a créé le nom de « Staphylocoque » pour décrire ces grains « kokkos » groupés en amas irréguliers à la façon d'une grappe de raisin « staphylos ». Ogston différencie ainsi *Staphylococcus* de *Streptococcus* (Spicer, 2002 ; (Stephen et Hawkey, 2006).

En 1884, des cultures pures de ces bactéries sur milieu solide ont été obtenues par Rosenbach en Allemagne, qui donne la première description du genre *Staphylococcus*, différenciant ainsi *S. aureus* de *S. albus* par la coloration des pigments blanche ou dorée produits par les colonies (Avril et al., 2000).

En 1885, Zopf a placé les staphylocoques et les microcoques dans le genre *Micrococcus*, séparés par la suite par Flugge, Evans, Bradford et Niven (1995) en Aérobie anaérobies facultatifs pour *Staphylococcus* et aérobie pour *Micrococcus*.

Par la suite, une nette distinction basée sur la composition de l'ADN entre les deux genres a été proposée par Silvestri et Hillen (1965). Le pourcentage en bases G+C de l'ADN des microcoques est de 63-73%, comparé à celui des staphylocoques 30-39% (Stephen et Hawkey, 2006).

Le *Staphylococcus aureus* est l'espèce la plus pathogène du genre *Staphylococcus*. La première cause d'infection bactérienne à travers le monde et la deuxième en ce qui concerne les toxi-infections alimentaires (Sergelidis et Angelidis, 2017). Il s'agit de l'un des premiers agents pathogènes zoonotiques émergents (Odeymi, 2016) à l'origine d'infections communautaires et nosocomiales (Chairat et al., 2015) très polymorphes, avec un impact sur la santé publique et le secteur de l'élevage (Luzzago et al., 2014 ; Peton et al., 2014). Les atteintes peuvent varier d'une simple infection cutanée bénigne comme les furoncles ou les panaris à des pathologies mettant en jeu le pronostic vital comme les septicémies, les infections du système nerveux central (Lowy, 1998) et même les toxi-infections alimentaires (Aydin, et al. 2011).

De plus, c'est une préoccupation majeure pour l'industrie de transformation des aliments en raison de ses facteurs de virulence et de sa capacité à former un biofilm (Rodrigues, et al. 2017).

III. Habitat

L'espèce *S. aureus* est un germe ubiquitaire. Elle est très répandue dans la nature, il s'agit d'un agent pathogène commensal majeur (Rong et *al.*, 2017). Communément trouvé dans l'eau, l'air, les poussières, aussi, dans le microbiote humain et animal normal, principalement au niveau de la peau et les muqueuses; bien qu'il puisse également être trouvée dans le microbiote intestinal (Odetokun et *al.*, 2018). Sa niche écologique dominante est l'oropharynx et le nez (Benito et *al.*, 2014).

Les souches de *S. aureus* sont présentes également sur les membranes muqueuses du tractus respiratoire ainsi que le tractus urogénital et comme flore transitoire dans le tractus digestif (Quinn et *al.*, 2011). Le taux de portage nasal chez les sujets sains humains varie entre 20% et 55% selon la population étudiée (Nouwen et *al.*, 2005). Trois profils de portage nasal peuvent être distingués mais peuvent changer dans le temps: environ 20% des sujets sains sont porteurs permanents, 20% sont des porteurs intermittents et 50% ne sont pas porteurs (Lakhundi and Zhang, 2018). Les mécanismes impliqués sont encore mal compris et font intervenir des facteurs liés à l'hôte, mais aussi des facteurs bactériens et environnementaux (Nouwen et *al.*, 2005).

Ces bactéries survivent et prolifèrent du fait de leur particulière résistance aux conditions hostiles de l'environnement, tels que la dessiccation, aux variations de température (2 h à 55°C, voir 1 h à 60°C), au choc osmotique (salinité de l'eau) et résistent encore mieux en milieux albumine (Breche et *al.*, 1988) ; (Gonzalez-Fandos et *al.*, 1999).

Chez l'animal, *S. saprophyticus* a été isolé à partir d'écouvillons rectaux de carcasses de bovins et de porcs. Au contraire, chez l'homme, le réservoir de *S. saprophyticus* est le tractus gastro-intestinal et urinaire (Coton et *al.*, 2010; Mlaga et *al.*, 2017). D'autres espèces de staphylocoques sont principalement associées aux espèces dominantes dans la peau humaine et parfois isolées de la peau des animaux domestiques (Hosseinzadeh et Dastmalchi Saei, 2019).

Les espèces comme *S. xylosus*, *S. lentus*, et *S. warneri* sont couramment utilisées comme cultures de démarrage commerciales pour la fabrication de saucisses fermentées et les espèces les plus communes trouvées (Ouoba et *al.*, 2019).

IV. Caractérisation de *S. aureus*

IV.1. Caractérisation phénotypique

IV.1.1. Caractères morphologiques

Sous forme de cocci, *S. aureus* se présente en petits amas, de diplocoques ou de très courtes chaînettes (Figure-1), mesurant 0,8 à 1 μm de diamètre, gardant le Gram. Il est immobile, non sporulé et acapsulé visible au microscope optique sauf de très rares souches formant des colonies mucoïdes, sont entourées d'une pseudocapsule (Bronner et *al.*, 2003).

Dans le pus, à la fois intra et extracellulaire, les staphylocoques se regroupent de façon variable. Sur les cultures en milieu solide, ils se disposent en amas irréguliers polyédriques, évoquant l'aspect caractéristique de "grappes de raisin" (Fasquelle, 1974 ; Ferron, 1985).

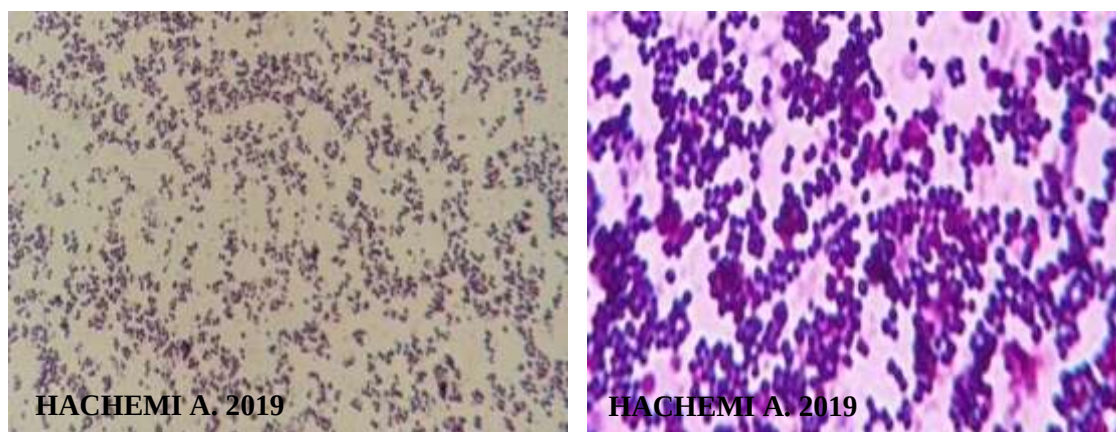


Figure 1. Observations microscopiques du *Staphylococcus aureus*
(Photo personnelle prise en Décembre 2019)

Alors qu'en milieu liquide, ils sont souvent isolés, en diplocoques, en tétrades ou en très courtes chaînettes (Le Minor et Veron, 1990). Alors que s'ils sont examinés sur lames, après avoir été isolés d'une gélose, l'aspect en mosaïque est habituel (Fasquelle, 1974).

IV.1.2. Caractères cultureux

Les staphylocoques sont peu exigeants sur le plan nutritif, aéro-anaérobies facultatifs. Pas très exigeants, ils croissent bien sur les milieux usuels simples, aussi sur la plupart des milieux pour les bactéries à Gram positif. Le *S. aureus* est capable de se multiplier dans des milieux contenant 5 à 10 % de Na Cl.

Sa température optimale de croissance est de 37°C et le pH optimal est de 7.5, mais de grandes variations sont tolérées respectivement de 10 à 45°C et de 5.6 à 8.1 (Mebkhout, 2019) (Marion, 2013). Aussi, la croissance de *S. aureus* est possible dans des milieux ayant une très faible activité d'eau (0,83) et ayant des concentrations de chlorure de sodium allant jusqu'à 20%. Ce qui lui confère la capacité de coloniser une grande variété d'aliments, spécialement les aliments riches en nutriments (Viandes et laits) (Hachemi et *al.*, 2019). Quelques heures sont suffisantes en bouillon pour qu'il devienne trouble pour arriver à observer un dépôt par la suite. Aucune production de pigment n'est observée en milieu liquide (Kloos et Shleifer, 1975).

Les colonies sont par contre circulaires (2-4 mm de diamètre), légèrement bombées, lisses et luisantes sur gélose ordinaires, et ce après 24 heures d'incubation ; avec une pigmentation qui peut varier du blanc au jaune ou jaune orangé selon le milieu solide (Denis et Poly, 2007).

A titre d'exemple, sur gélose au sang, les souches typique de *S. aureus* peuvent produire des colonies de grand diamètre que celles produites sur gélose nutritive et de couleur jaune dorée, entourées d'une hémolyse bêta (Couture, 1990 ; Denis et Poly, 2007). Aussi, sur un milieu sélectif tel que le milieu « Chapman » où les colonies sont entourées d'un halo jaune puisqu'elles fermentent le mannitol. En bactériologie alimentaire, l'isolement et la caractérisation du Staphylocoque se fait sur milieu « Baird Parker » constitué à base de tellurite de potassium et de jaune d'œuf. *S. aureus* s'y présente sous forme de colonies noires (réduction du tellurite) avec un halo clair autour (protéolyse) (Ananthana et Paniker, 2006). Il s'agit de bactéries toxigènes, où les conditions aérobies sont plus favorables à la sécrétion des toxines que les conditions d'anaérobie (Duquenne, 2010).

IV.1.3. Caractères biochimiques

La recherche des activités biochimiques des staphylocoques est précieuse pour identifier le genre *Staphylococcus*, distinguer un Staphylocoque pathogène d'un non pathogène mais aussi. Toutes les souches du genre *Staphylococcus* produisent une catalase, permettant ainsi de les distinguer des souches du genre *Streptococcus* qui n'en produisent pas (Le Minor et Veron, 1990). Les souches de *S. aureus* sont : indole (-), oxydase (-), acétone(+), uréase(+), réduisant le tellurite de potassium et les nitrates en nitrites et produisant de l'ammoniaque à partir de l'arginine (Fasquelle, 1974).

Il possède également un équipement enzymatique lui permettant de métaboliser de nombreux et divers substrats glucidiques, protéiques et lipidiques (Ferron, 1985).

Le métabolisme glucidique est particulièrement intéressant puisque la plupart des sucres sont fermentés (glucose, saccharose, lévulose, lactose et mannitol). Le glucose est utilisé en anaérobiose et aérobie ainsi que le mannitol. La recherche de la fermentation du mannitol s'effectue généralement sur le milieu Chapman où les staphylocoques pathogènes vont fermenté le mannitol en 24h à 48h (acidifient le milieu qui vire au jaune).

Cependant certaines souches, pourtant pathogènes demeurent inactives sur le mannitol. La fermentation du mannitol n'a pas de valeur absolue et doit être complétée par d'autres tests en ce qui concerne quelques espèces (Couture, 1990). Par contre, demeure très importante dans la distinction entre *S. aureus* (golden) et *S. argenteus* (silver) (Suzuki et al., 2017).

Le pouvoir d'hémolyse des *Staphylococcus aureus* peut différencier entre l'origine humaine et animale de la souche. Une hémolysine "alpha" peut être mise en évidence sur gélose au sang de lapin ou au sang de mouton, tandis que les *S. aureus* pathogènes d'origine animale possèdent une hémolysine "bêta" active uniquement sur les globules rouges de mouton (El Kouri et al., 1998 ; Avril et al., 2003). Cependant certaines souches de *staphylococcus* présentent les deux (02) types d'hémolysine. La paroi cellulaire des staphylocoques est résistante au lysozyme et sensible au lysostaphine, qui clives spécifiquement les ponts pentaglycine de *Staphylococcus spp* (Le Loire et al., 2003). Aussi, la plupart des souches sont lipolytique produisant une zone opaque lorsqu'elles sont cultivées dans des milieux contenant le jaune d'œuf (Ananthana et Paniker, 2006).

L'espèce *S. aureus*, est caractérisée par la production d'une coagulase libre « staphylocoagulase » (Fauchere et Avril, 2002) ; produit du gène *coa*. Une protéine extracellulaire qui se lie à la prothrombine de l'hôte. La thrombine activée transforme ainsi le fibrogène en fibrine (Brun et al., 2003). Certaines souches peuvent ne pas la produire en raison d'une mutation où ce n'est qu'une ADNase thermostable qui permettra la détermination (Couture, 1990). C'est le principe du test de détection qui consiste à incuber, un mélange de plasma de lapin (3 volumes) avec la souche à tester (1 volume) pendant 6h puis 24h à 37°C. La positivité du test s'interprète par la formation d'un caillot observé en inclinant le tube, et qui forme plus que la moitié du tube (Norme ISO 6888-1).

IV.2. Caractérisation génotypique de *S. aureus*

Le génome de *S. aureus* a été séquencé pour 6 Souches de *S. aureus* (Baba et al., 2002 ; Holden et al., 2004 ; Kuroda et al., 2001). Il s'agit d'un chromosome circulaire. Le contenu en G+C est de 33% ,84% du génome est codant et entre 2592 et 2748 gènes ont été identifiés. *S. aureus* contient en général un plasmide de 20 000 à 25 000 pb contenant une trentaine de gènes (Kuroda et al., 2001).

IV.2.1. Le core du génome

Le génome de *S. aureus* est constitué d'un chromosome circulaire et jusqu'à trois petits plasmides circulaires (Akkou, 2016). Il se caractérise par sa complexité et sa plasticité. Selon Lindsay et al. (2006), *S. aureus* a, en plus du core et la partie accessoire, une région variable de base appelée « Core-variable de génome ». Les gènes du core-variable affichent une plus grande variation que les gènes de base, toutefois ils restent généralement stables et transférés verticalement à l'intérieur notamment des lignées clonales (Lindsay et al., 2006).

IV.2.2. Les éléments génétiques mobiles (EGM)

Les éléments génétiques mobiles (EGM) ce sont des gènes qui peuvent être de virulence, de spécificité de niche, de résistance aux antibiotiques, de régulation et/ou des voies métaboliques particulières (Ochman et al., 2000 ; Lindsay, 2008) et comprennent des génomes prophages, des transposons, des séquences d'insertion, des plasmides, des cassettes chromosomiques, des îlots de pathogénicité, des îlots génomiques (Lindsay et Holden, 2004). Ils peuvent se propager par transfert horizontal de gènes entre les espèces de Staphylocoques (Wakabayashi et al., 2018) et/ou entre d'autres espèces bactériennes plus ou moins éloignées (Fitzgerald et al., 2001). Il s'agit d'une combinaison unique des EGM pour une même souche de *S. aureus*, malgré sa possibilité de se déplacer dans et hors des souches (Moore et Lindsay, 2001; Goerke et al., 2006).

IV.2.3. Les supports génétiques des EMG

A. Bactériophages

Très répandus parmi les souches de *S. aureus*, les bactériophages peuvent coder des toxines connues telles que l'entérotoxine A, la leucocidine de Pantone-Valentine (*Pvl*), la protéine inhibitrice du complément (*scin*), la protéine inhibitrice de chimiotaxie (*chip*) et la staphylokinase (*sak*) (Lindsay, 2010).

La majorité des bactériophages de *S. aureus* appartiennent à la famille des virus bactériens tempérés portant une queue des *Siphoviridae* (Goerke et al., 2009), également appelée des phages de classe II, souvent environ 40 kpb de longueur et présentent une structure en mosaïque. D'autres types de phages identifiés chez *S. aureus* incluant des phages de petite taille (<20 kpb) de classe I et des phages de grande taille (>125 kpb) de classe III qui sont membres de la famille des *Myoviridae* (Kwan et al., 2005). Quand un phage intègre le chromosome, il devient un prophage stable et se réplique avec le reste du génome, en étant transféré verticalement aux cellules bactériennes filles.

Au fil du temps, la totalité ou une partie de la séquence de prophage peut s'associer de façon stable, au chromosome (McShan et Ferretti, 2007).

B. Plasmides

Ce sont des molécules d'ADN circulaires qui se répliquent indépendamment du chromosome bactérien (Waldron et Lindsay, 2006), en nombre très variable et dont la taille varie de 3 kpb à 150 kpb (Lindsay, 2008).

Les plasmides sont classés selon leur taille et leur capacité à conjuguer. On distingue les plasmides de classe I (généralement moins de 5 kpb), se présentent en grand nombre de copies, parfois intégrés dans le chromosome et peuvent transporter un ou deux gènes de résistance aux antibiotiques (Khan, 2005). Les plasmides de classe II (jusqu'à 40 kpb), dont beaucoup d'entre eux confèrent une résistance aux β -lactamines, aux métaux lourds, aux antiseptiques ou aux aminoglycosides. Les plasmides de classe III (jusqu'à 60 kb) et les seuls plasmides de conjugaison en raison de la présence de gènes tra (Lindsay et Holden, 2006).

C. Cassette Chromosomique Staphylococcique (SCC)

Des pièces d'ADN qui s'insèrent toujours dans le gène *orfX* de *S. aureus*. La majorité porte le gène *mecA* codant pour la résistance à la méticilline (*SCCmec*). La cassette chromosomique staphylococcique peut également transporter d'autres gènes de résistance portés sur de petits transposons ou intégrés à de petits plasmides (Lindsay, 2010). Les *SCCmec* restent relativement stables et se déplacent rarement par rapport aux autres EGM (Katayama et al., 2000). Plusieurs types de *SCCmec* ont été décrits (*classI-VII*, etc) (Nübel et al., 2008) et chacun a une combinaison unique de résistance (Ito et al., 2004).

A ce jour, le site web de l'IWGSCC « *International Working Group on the Staphylococcal Cassette Chromosome element* » a accès à une liste de 11 types d'éléments SCCmec, provenant de combinaisons de 8 différents complexes de gène de *ccr* et 5 différents complexes de gène *mec* (Chaalal et al., 2018).

D. Transposons

Ils peuvent être trouvés intégrés dans le SCC, des plasmides ou sur le chromosome. Sont relativement petits et codent des gènes de résistance. D'autres ont la chance d'être plus grands mais relativement rares, peuvent coder pour la résistance à la tétracycline, au triméthoprim ou aux aminosides (Lindsay, 2010). Les transposons ont la possibilité de se transférer entre des espèces distinctes, telles que le transposon *vanA* originaire des entérocoques (Clark et al., 2005).

Dans les EGM du génome de *S. aureus*, plusieurs types utilisent la cellule hôte pour produire plusieurs copies avec une grande chance d'être retenus (Ochman et al., 2000).

E. Îlots staphylococciques de pathogénicité (SaPI)

Les SaPI, semblables à beaucoup de bactériophages avec leur structure en mosaïque, et une organisation modulaire conservée d'environ 15 kpb à 17 kpb, codant souvent des gènes de virulence (Subedi et al., 2007). Ils peuvent coder des toxines de syndrome de choc toxique-1 (*tsst-1*), des gènes de super-antigène, en particulier *seb* et *sec* qui sont également impliqués dans le syndrome de choc toxique, et des protéines associées aux biofilms Bap (Cucarella et al., 2001 ; Lindsay, 2010). Un transporteur de multi-résistance aux antibiotiques et un gène de résistance à l'acide fusidique ont également été signalés sur les SaPI (O'Neill et al., 2007; Guinane et al., 2008).

F. Îlots génomiques variables

Le *S. aureus* est connu par les deux îlots génomiques : Le *vSaa* codent pour un groupe de protéines super-antigéniques-like (*ssl*) et dix lipoprotéines, alors que le *vSaβ* codent pour le cluster *egc* de superantigènes, le bi-composant leucotoxine *lukD* et *lukE*, et le cluster *spl* des sérines protéases. Les deux îlots codent également pour des protéines de modification de restriction et des transposases putatives HsdS et HsdM (Akkou, 2016).

V. Facteurs de virulence et pathogénie de *S. aureus*

La complexité de la pathogénie de *S. aureus* réside dans la multitude de ses facteurs de virulence. C'est l'action combinée de l'ensemble de ces facteurs qui explique le fort pouvoir pathogène de cette bactérie et la multitude de maladies humaines et animales qu'elle provoque (Hiron, 2007).

Il existe un très grand nombre de gènes liés à la virulence (Annexe-2): au moins 40 gènes codant pour des toxines, 20 codant pour des facteurs d'adhésion et 44 régulant la transcription de produits associés à la virulence. Les gènes codant pour les toxines sont regroupés dans les îlots de pathogénicité qui sont des éléments génétiques mobiles (Kuroda et al., 2001). Près de 75% des souches de *S. aureus* ont des gènes codant pour des toxines (Becker et al., 2003).

Pratiquement toutes les souches de *S. aureus* expriment ce potentiel, en produisant des enzymes et des cytotoxines (Todar et al., 2005) qui permettent en particulier de convertir les tissus locaux de l'hôte en nutriments nécessaires à la croissance bactérienne : Il s'agit d'hémolysine, permettant une pénétration des tissus et une adhésion sélective, mais aussi des lipases, des hyaluronidases et des collagénases (Dinges et al., 2000 ; Nehal et al., 2010).

Certaines souches produisent une ou plusieurs exoprotéines : La toxine-1 du syndrome du choc toxique (*tsst-1*), des entérotoxines (*ES*), des toxines exfoliatives (*ET*) qui affectent les cellules du système immunitaire où le *tsst-1* et les entérotoxines staphylococciques sont considérées comme des toxines pyrogènes super antigènes (PTSAs) (Dinges et al., 2000 ; Thomas et al., 2007 ; Zhang, 2001). La synthèse de l'ensemble de facteurs de virulence est coordonnée par des systèmes de régulation de la virulence appelé *agr* (accessory gene regulator) (Bronner et al., 2004 ; Dufour et al., 2002) qui, possède un polymorphisme génétique avec quatre groupes alléliques identifiés.

Ce polymorphisme pourrait expliquer la diversité des infections entraînées par *S. aureus*. Par exemple, le système *agr* type IV est retrouvé dans les souches productrices d'exfoliatines alors que les souches produisant *TSST-1* ont un système *agr* de type III (Jarraud et al., 2000).

V.1. Composants de la surface

V.1.1. Exo-polysaccharides capsulaires

La majorité des isolats de *S. aureus* expriment un polysaccharide de surface « Une microcapsule » élaborée durant la phase de croissance post-exponentielle (O'riordan et Lee, 2004) et visualisée que par microscopie électronique (Todar, 2009).

Comme rôles, la capsule est capable de faciliter l'adhérence de la bactérie aux cellules endothéliales (Pohlmann-Dietze, et *al.*, 2000), d'interférer avec la phagocytose des *S. aureus* (Thakker et *al.*, 1998) et pourrait masquer les antigènes de la paroi cellulaire (Risley et *al.*, 2007) et confère à la bactérie une forme de résistance aux antibiotiques (Deverriere, 2007).

V.1.2. Acides teichoïques (Polysaccharides A)

Les acides glycérol-teichoïques sont trouvés chez les staphylocoques, sauf chez *S. aureus*, *S. xylosus* et *S. saprophyticus* qui possèdent de l'acide ribitol-teichoïque; le substituant le plus fréquent est la N-acétylglucosamine. Les acides teichoïques de *S. aureus* sont aussi appelés polysaccharides A (Karthik, 2007).

Ils ont une activité endotoxin-like stimulant la sécrétion de cytokines par les cellules lymphomonocytaires, l'activation du complément et l'agrégation plaquettaire, favorisant ainsi la colonisation puisqu'ils sont des récepteurs de bactériophages «lysotypie des staphylocoques» et donnent naissance à des anticorps que l'on retrouve dans le sérum du malade (Spicer, 2003).

V.1.3. Peptidoglycane

Les espèces de staphylocoques possèdent un peptidoglycane qui diffère entre eux par leurs acides aminés (Avril et *al.*, 2003). Il diffère entre les espèces de Staphylocoques, par les acides aminés.

Chez *S. aureus*, le re-largage de grandes quantités de peptidoglycane lors d'infections locales (abcès, infections articulaires) provoque un chimiotactisme des cellules phagocytaires et une libération de cytokines (*IL-1*, *IL-6*, *IL-8* et *TNF alpha*) qui en grande quantité, provoquent des lésions tissulaires et une hyperthermie (Schleifer, 1983).

V.1.4. Facteurs d'adhésion et d'invasion

Le *S. aureus* possède un grand nombre de protéines exposées à la surface de la bactérie « adhésines », qui ont la capacité de se fixer sur des molécules de l'hôte. Un certain nombre de ces adhésines appartiennent à la famille des MSCRAMM (*Microbial Surface component Recognizing Adhesive Matrix Molecule*) (O'seaghdha *et al.*, 2006 ; Freney, 2007).

A. Protéines A

Une protéine caractéristique de l'espèce *S. aureus*, constitutive de la paroi, qui joue un rôle dans la capacité des staphylocoques à coloniser les tissus. Cette protéine de 42 kDa n'est élaborée que des souches d'origine humaine (Plus de 90%) tandis que les souches d'origine animale sont moins souvent productrices de cette substance (Avril *et al.*, 2003). Chez les staphylocoques à coagulase négative, cette protéine est absente sauf parmi les espèces qui possèdent une nucléase thermostable.

B. Protéine de liaison au collagène de type I, II et IV,

Ce récepteur du collagène pourrait constituer un facteur de virulence important dans les infections osseuses et articulaires à *S. aureus* (Buckingham *et al.*, 2004).

C. Protéine de liaison au fibrinogène

C'est une protéine (21kDa) de surface, très riche en lysine et fixée au corps bactérien ; appelée «*Clumping factor* ». Présente chez presque toutes les souches d'origine humaine mais moins fréquente chez les souches d'origine animale (Francois *et al.*, 1997).

Ce facteur provoque l'agrégation des bactéries en présence de plasma et est responsable de la formation d'une sorte de coque autour des germes qui deviennent ainsi résistants à la phagocytose et entraînent la formation d'embolies septiques (Fauchere et Avril, 2002). Aussi, sur les plaies et les infections sur corps étrangers. C'est le facteur d'adhésion le plus important sur les bio matériels récemment implantés (Buckingham *et al.*, 2004).

D. Protéine de liaison à la fibronectine

Il s'agit d'une glycoprotéine dimérique qui a pour rôle d'ancrer les cellules des tissus dans la matrice extracellulaire. Ainsi, permet au staphylocoque de s'accrocher à nos cellules sous-endothéliales, soit à la membrane basale des vaisseaux sanguins (Batard *et al.*, 2007).

Cette protéine contribue à l'adhérence de *S. aureus* aux caillots plasmatiques mais aussi aux biomatériaux ayant un contact prolongé avec le sang. Elle serait impliquée dans les phénomènes d'internalisation prenant part à la physiopathologie des endocardites infectieuses à *S. aureus*.

V.2. Les substances élaborées par *S. aureus*

Toutes les souches *S. aureus* produisent des substances excrétées dans le milieu extracellulaire et sont douées soit d'une activité enzymatique, soit d'une activité toxique ; avec une distinction souvent difficile (Bhatia et Zahoor, 2007).

V.2.1. Enzymes

A. La coagulase libre

Il s'agit d'une enzyme extracellulaire, thermostable peu antigénique (Phonimdaeng et *al.*, 1990) et caractère taxonomique essentiel.

Une protéine d'origine chromosomique, produite pendant la phase exponentielle de croissance du germe (Foster et Mc Devitt, 1994) et semble liée à la capacité de *S. aureus* à provoquer une infection (Francois et *al.*, 1997). La coagulase se lie à la prothrombine de l'hôte pour former le staphylo-thrombine, qui transforme le fibrinogène en fibrine.

En condition biologique, elle recouvre les corps bactériens d'une coque de fibrine, ce qui inhibe leur phagocytose et favorise leur dissémination en provoquant la coagulation localisée (Todar, 2009).

B. La staphylokinase ou fibrinolysine

Il s'agit d'une enzyme thermolabile, antigénique qui transforme le plasminogène en plasmine, elle agit sur le plasma humain, de chien, et de lapin. Nombreuses sont les souches de *S. aureus* qui expriment la « La Staphylokinase », la plupart pathogènes pour l'humain. Elle contribue à la dislocation du caillot et peut jouer un rôle dans la formation de micro-emboles suppurés responsables des métastases septiques (Flandrois, 1997 ; Jin et *al.*, 2003).

C. *Fatty acid modifying enzyme* “FAME”

C'est une enzyme qui modifie les acides gras « FAME ». Elle semble constituer un facteur de virulence important dans les abcès par modification des lipides antibactériens de l'hôte (Aly et Levit, 1987). Cette substance thermolabile est antigénique, caractérise les souches pathogènes humaines, plus précisément 80% des souches de *S. aureus*.

D. Catalase

Une enzyme qui convertit le peroxyde d'hydrogène accumulé dans la cellule, résultant du métabolisme ou lors de la phagocytose en molécules d'eau et d'oxygène, ce qui empêche la formation de radicaux oxygénés toxiques pour la bactérie (William, 2009).

E. Hyaluronidase

Une enzyme thermolabile (80KDa) agissant à pH acide. Elle a un effet lytique sur l'acide hyaluronique, substance fondamentale du tissu conjonctif (Murray et al., 2009) dont elle diminue la viscosité; pour faciliter la diffusion des staphylocoques dans les tissus (Foster et Mc Devitt, 1994).

F. Protéase

Elles hydrolysent certaines protéines, et contribuent à la destruction du caillot et à la formation de micro-emboles bactériens, responsables de métastase septiques. Nous distinguons au moins trois types connus : serine-protéase, métalloprotéase et thiolprotéase (El Kouri et al., 1998).

G. Nucléases

Des enzymes capables d'hydrolyser l'ADN et l'ARN. Ils sont actifs à pH alcalin en présence de calcium (Kumar et al., 2008). Chez toutes les souches de *S. aureus* ainsi que 5% des souches de staphylocoques à coagulase négative la Désoxyribonucléase est thermostable. Celle des autres espèces bactériennes est thermolabile. Ces nucléases interviennent dans la formation des lésions tissulaires (Guiraud et Rosec, 2004 ; Kapral et al., 1992).

H. β -lactamases

Elle inactivent les β -lactamines et jouent un rôle important dans la résistance des souches de staphylocoques à ces antibiotiques (Motamedi et al., 2010).

I. Lipases et estérases

Des enzymes présents chez la plupart des souches de *S. aureus* et capables de métaboliser les graisses cutanées et jouent un rôle dans la dissémination de l'infection (Kapral et al., 1992).

J. Phosphatases

Les phosphatases alcaline et acide (pH optimaux 10.8 et 5.2) sont localisées sur la membrane cytoplasmique ou l'acide teichoïque (Avril, et al., 1992).

V.2.2. Les toxines

La pathogénie de *S. aureus* est liée à divers facteurs de virulence qui peuvent aggraver les résultats cliniques des infections à Staphylococques (Benito et al., 2014) et attribués à une combinaison de propriétés. Ici, nous allons abordé les différents groupes de toxines (Benito et al., 2014) ; principalement, la *leucocidine Pantan-Valentine (Pvl)* qui est une toxine membranaire staphylococcique à deux composants, qui cible les leucocytes (Pu et al., 2010) ;

Les toxines staphylococciques comprennent également la toxine-1 du syndrome de choc toxique (*TSST-1*), les toxines exfoliatives (ETa à ETd), les entérotoxines staphylococciques (SE) avec une activité émétique démontrée et les protéines de type entérotoxine staphylococciques like (SEI) (Chairat et al., 2015). Toutes les toxines énumérées ci-dessus possèdent une activité super-antigénique et ont été désignées comme super-antigènes staphylococciques (SAGs) (Fijalkowski et al., 2016). Généralement, ce sont des protéines staphylococciques de type entérotoxine like (SEIs) et cinq entérotoxines classiques (SE) codées par les gènes de *sea* à *see* (Roussel et al., 2015) ; (Velasco et al., 2018).

Les toxines ci-après, ce sont des protéines, sécrétées par les Staphylocoques, qui vont agir à distance du site infectieux, ainsi provoquer des syndromes variés. On distingue différents types de toxines :

A. La leucocidine de Pantan Valentine (Pvl)

Des exotoxines bactériennes qui font partie de la famille de toxines synergohyménotropes (SHT) ; avec une activité lytique sur les monocytes, les macrophages, les polynucléaires neutrophiles et les métamyélocytes (Rainard et al., 2003 ; Fanny et al., 2008).

Les leucotoxines induisent un influx d'ions Ca^{+2} , et en conséquence, une formation de pores permettant l'entrée d'éthidium (Barrio *et al.*, 2006). Le locus codant pour la production de *Pvl* est porté par un phage et n'est retrouvé que dans un nombre restreint des souches de *S. aureus* en France (2 à 5%) alors qu'en Afrique 30% des souches produisent cette toxine (Batard *et al.*, 2007).

Les souches productrices de *Pvl* sont classiquement associées à des infections cutanées primitives, notamment les furoncles, les pneumonies nécrosantes et hémorragiques, mais aussi des ostéomyélites (Durupt, *et al.*, 2007) et des infections graves à point de départ cutané primaire (Buckingham *et al.*, 2004).

B. Les toxines pyrogènes

Il existe deux toxines pyrogènes, mitogènes, aspécifiques et antigéniques réparties en deux sérotypes A et B. Ces toxines sont impliquées dans les fièvres scarlatiniformes staphylococciques (Avril *et al.*, 2000).

C. Les superantigènes

Les superantigènes sont des molécules présentant une liaison directe à grande affinité avec les antigènes du complexe majeur d'histocompatibilité de classe II des cellules présentant l'antigène (Velasco *et al.*, 2005).

Le *S. aureus* produit trois types de superantigènes : les entérotoxines, la toxine 1 du choc toxique (*TSST-1*) et les toxines exfoliatives. Les pathologies les mieux connues comme étant associées à ces molécules superantigéniques sont le choc toxique et les dermites exfoliatives (Merlet, 2010).

C.1. Exfoliatines ou épidermolysines

Ce sont des toxines thermostables, épidermolytiques A et B. Elles provoquent un décollement intra-épidermique entre le *stratum granulosum* et le *stratum spinosum*. Ce qui provoque une rupture entre les cellules adjacentes, suivie de celles des ponts intercytoplasmiques (desmosomes) ce qui entraîne des lésions bulleuses (Vandenesch *et al.*, 2012) ; que l'on observe parfois au cours des septicémies à staphylocoques et au cours de l'impétigo. Aussi, le syndrome d'exfoliation généralisé (ou syndrome de la peau ébouillantée) (Nishifuji *et al.*, 2008).

Ces deux toxines sont responsables d'infections néonatales, et syndrome de Ritter et d'impétigo bulleux (Le loir et *al.*, 2010).

C.2. Toxine du Syndrome du Choc Toxique Staphylococcique (TSST-1)

La *Toxic Shock Syndrome Toxin-1* (TSST-1) est d'origine chromosomique et qui se compose de 234 acides aminés avec une masse moléculaire d'environ 22 kDa. Elle n'est produite que par un nombre limité de souches de *S. aureus* et déclenche les mécanismes de l'immunité grâce à son effet pyogène et son activité super-antigénique, qui entraîne l'activation simultanée de plusieurs sous-populations lymphocytaires, ce qui entraîne la libération de plusieurs médiateurs (interleukine, interféron gamma, TNF alpha et bêta).

Elle permet la liaison entre le récepteur des cellules T et le CMH II, ce qui induit le mécanisme pour l'activation des cellules T (Gras, 2006).

C.3. Les Entérotoxines Staphylococciques

Ce sont des exoprotéines, thermostables, insensibles aux enzymes protéolytiques du suc digestif ; qui constituent un groupe de molécules hautement toxiques produits par les staphylocoques dans les aliments.

Elles sont impliquées dans les toxémies staphylococciques (TSST-1 et le SSSS pour les exfoliatines), l'entérocite aigue pseudomembraneuse et les toxi-infections alimentaires pour les entérotoxines (Freney, 2007) ; responsables de diarrhée, vomissements, douleurs abdominales, et rarement un collapsus cardiaque. Des symptômes qui apparaissent rapidement, 1 à 6 heures après ingestion.

Parmi les staphylocoques à coagulase positive, plusieurs espèces peuvent sécréter des ES, c'est le cas de *S. aureus* et de *Staphylococcus intermedius* (Khambaty et *al.*, 1994 ; Becker et *al.*, 2001). Selon certains auteurs, quelques espèces à coagulase négative comme *S. cohnii*, *S. epidermidis*, *S. xylosus* et *S. haemolyticus* (Bautista et *al.*, 1988 ; Cunha et *al.*, 2007 ; Veras et *al.*, 2008 ; Zell et *al.*, 2008), aussi pour *S. delphini* (Zhang et *al.*, 2018) peuvent également produire des ES.

Ces dernières peuvent posséder un ou plusieurs gènes codants pour les entérotoxines, avec différents supports génétiques (Tableau-1).

Tableau 1. Support génétique de certains gènes d'ES. (Le Loir et Gautier, 2010)

Gène	Localisation génétique	Référence
<i>Sea</i>	Prophage	(Betley et Mekalanos, 1985 ; Borst et Betley, 1994)
<i>Seb</i>	Chromosome plasmide, transposon	Altboum et <i>al.</i> , 1985 ; Shafer et Iandolo, 1978 ; Shalita et <i>al.</i> , 1977
<i>Secl</i>	Plasmide	Altboum et <i>al.</i> , 1985
<i>Secbov</i>	Ilôt de pathogénicité	Fitzgerald et <i>al.</i> , 2001
<i>Sed</i>	Plasmide (PIb485)	Bayles et Iandolo, 1989
<i>See</i>	Phage défectif	Couch et <i>al.</i> , 1988
<i>seg</i>	<i>Entreotoxin gene cluster (egc)</i> , chromosome	Jarraud et <i>al.</i> , 2001
<i>Seh</i>	Elément génétique mobile putatif	Noto et Archer, 2006
<i>Sei</i>	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud et <i>al.</i> , 2001
<i>Sej</i>	Plasmide (PIb485)	Zhang et <i>al.</i> , 1998
<i>Sek</i>	Ilôt de pathogénicité	Orwin et <i>al.</i> , 2001
<i>Sel</i>	Ilôt de pathogénicité	Fitzgerald et <i>al.</i> , 2001
<i>Sem</i>	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud et <i>al.</i> , 2001
<i>Sen*</i>	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud et <i>al.</i> , 2001
<i>Seo*</i>	<i>egc</i> , chromosome	Jarraud et <i>al.</i> , 2001
<i>Sep</i>	Prophage (Sa3n)	Omoe et <i>al.</i> , 2005
<i>seq</i>	Ilôt de pathogénicité	Jarraud et <i>al.</i> , 2002
<i>Ser</i>	Plasmide	Omoe et <i>al.</i> , 2003
<i>Seu</i>	<i>egc</i> , (fusion entre <i>ent1</i> et <i>ent2</i>), chromosome	Letertre et <i>al.</i> , 2003
<i>Seu2</i>	<i>egc</i> , (délétion partielle dans les pseudogènes <i>øent1</i> et <i>øent2</i>) chromosome	Thomas et <i>al.</i> , 2006
<i>sev</i>	<i>egc</i> , recombinaison entre <i>selm</i> et <i>sei</i> , chromosome	Thomas et <i>al.</i> , 2006

(*) Renommée d'après la note corrective publiée dans *J. Immunol.* 2001. 166 :4260

Actuellement, il existe plus de 23 serotypes (Annexe-3) d'entérotoxines staphylococciques (SE) (Vasconcelos et *al.*, 2011). Les toxines *sea* à *see*, *seg* à *sei*. Les toxines *sea* à *see* sont considérées comme des entérotoxines « Classiques » et ont toutes été impliquées dans les épisodes de toxi-infections alimentaires (TIA). *seh* est la seule entérotoxine non classique qui également été impliquée dans des foyers de toxi-infections alimentaires (Walker-York-Moore et *al.*, 2017). A noter que la forme native de *sea* produite directement dans l'aliment apparaît trois fois plus résistante à la chaleur (120°C pendant 15min) que la forme purifiée. Pour ce qui est du *seb*, cette toxine superantigénique est considérée actuellement comme une puissante arme biologique (Greefield et *al.*, 2002).

Les études récentes obtenues à partir de l'analyse du génome ont pu mettre en évidence de nombreux gènes homologues aux gènes codant pour les (SE), il s'agit ici d'entérotoxines staphylococciques like (SEIs) : SEI/J-SEI/Y (Soares Casaes Nunes et *al.*, 2015) avec des propriétés émétiques vérifiées sur les primates (Omoe et *al.*, 2013). Des entérotoxines codées par des gènes insérés dans les éléments génétiques mobiles (EGMs) (Soares Casaes Nunes et *al.*, 2015 ; Zhang et *al.*, 2018).

Staphylococcus argenteus ainsi que *Staphylococcus schweitzeri*, les nouvelles parties du complexe de *S. aureus* avec un potentiel entérotoxigénique (Jiang et *al.*, 2018); (Wakabayashi et *al.*, 2018) semblent être associées à des infections, mais aucun cas d'intoxication alimentaire n'a encore été signalé (Suzuki et *al.*, 2017).

VI. Méthodes de diagnostics

VI.1. Méthodes de distinction entre espèces de Staphylocoques

VI.1.1. Méthodes biochimiques « Galerie API Staph »

La détermination utilise une galerie biochimique d'identification miniaturisée. Ce système standardisé utilise des tests d'assimilation des sucres et des tests enzymatiques permettant d'identifier 20 espèces et sous espèces de staphylocoques. La galerie API Staph® contient vingt micro-tubes, surmontés de cupules contenant des substrats déshydratés qui permettent de réaliser dix-neuf tests biochimiques correspondant au métabolisme respiratoire, glucidique et protéique des bactéries. La suspension bactérienne de 0,5 *Mac-Farland* est préparée à base d'une culture pure de 18 à 24h. La galerie estensemencée puis incubée à 35±2°C, pendant 18 à 24 h. En présence des acides produits par l'utilisation des différents sucres testés, le rouge de phénol, indicateur de pH, vire au jaune. Le profil numérique de la souche est ainsi établi selon les résultats obtenus et permet ainsi son identification à l'aide du logiciel apiweb® (Delarras, 2007). Cette galerie est assez performante pour distinguer les principales espèces de staphylocoques coagulase négative.

VI.1.2. Méthode spectrale « MALDI-TOF MS »

L'identification bactérienne de routine s'est toujours basée sur les tests phénotypiques et biochimiques. Le souci majeur en bactériologie de routine était le temps. La spectrométrie de masse (MS), technique utilisée depuis la fin du XIX^e siècle, a été appliquée ces dernières années afin d'identifier des micro-organismes, en routine.

Parallèlement, Le MALDI-TOF (*Matrix assisted laser desorption ionisation time-of-flight*) est une approche révolutionnaire d'identification bactérienne basée sur les spectres peptidiques. Connue d'être rapide, pas cher et très efficace (95.4%) (Seng et al. 2009). Il existe déjà trois MALDI-TOF de spectrométrie de masse : MALDI Biotyper™ (Bruker Daltonics), SARAMIS™ (Shimadzu & Anagnostec) et Le MALDI micro MX™ (Waters Corporation) (Seng et al. 2009).

Son principe est simple, des ions de masse et de charge différentes soumis à un champ électrique se déplacent, et la distance parcourue en un temps donné est fonction du rapport masse sur charge (m/z). La première étape consiste à mélanger l'échantillon à la matrice. Le mélange ainsi formé est déposé sur un support (plaque métallique), qui est introduite dans le spectromètre de masse. Chaque dépôt est soumis à l'action du rayon laser UV.

Le rôle de la matrice est d'absorber l'énergie provenant du laser. Les ions ainsi formés vont être mis en mouvement, et l'analyseur va les séparer en fonction de leur rapport m/z . Les ions sont séparés selon leur temps de vol (*time of flight*), ceux de petite taille atteignant les premiers le détecteur. La somme des ions analysés va former un spectre caractéristique de l'échantillon. Classiquement, l'axe des abscisses correspond au rapport masse sur charge (m/z) et l'axe des ordonnées à l'intensité relative du signal. Pour la classification, les méthodes de « *Clustering* » sont conventionnellement utilisées et les résultats sont visualisés en dendrogrammes (Biswas et Rolain, 2013). Les premières applications de cette approche à l'identification de bactéries intactes sont mentionnées dans (Annexe-4).

VI.1.3. Méthode génotypique « Application de la PCR »

Sa spécificité et sa capacité à fournir simultanément un grand nombre d'informations en un temps record, répond aux trois attentes de la pratique : l'identification, le typage et l'antibiogramme (Billy, 2003). La PCR peut être conventionnelle ou en temps réelle.

En 2001, Aarts et al. décrivent la PCR comme étant la répétition de cycles de dénaturation et d'élongation au bout desquels de nombreuses copies de l'ADN ciblées sont obtenues et cela, en peu de temps. Dans la PCR conventionnelle, la phase d'amplification est suivie d'une migration de l'amplicon sur gel d'agarose et la révélation du gène est effectuée par coloration avec l'agent intercalant, « le bromure d'éthidium » ou « *Sybr safe* ». Cette technique présente néanmoins des limites de détection variables selon le protocole d'extraction de l'ADN (De Buyser et al., 2010).

Par contre, la PCR en temps réel, la plus récente comme technique, présente l'avantage d'avoir les colorants fluorescents intercalés dans l'ADN double brin au fur et à mesure que l'amplicon se forme. Cette technologie permet un gain de temps, une quantification du gène recherché, une détection de plusieurs gènes à la fois et la réduction des risques de contamination de produits PCR (Aarts *et al.*, 2001).

Récemment, une PCR multiplex était développée pour rechercher plusieurs gènes à la fois, en utilisant plus de deux paires d'amorces (Costa, *et al.*, 2005 ; Strommenger *et al.*, 2003 ; Martineau *et al.*, 2000).

VI.1.3.1. Méthode d'amplification d'ADN par PCR : Typage *agr*

Le système « *accessory gene regulator* » est un régulateur global contrôlant l'expression de nombreux facteurs de virulence du *S. aureus* (Vandenesch, 1997). Un polymorphisme dans la séquence protéique du récepteur (AgrC) permet de définir quatre allèles *agr* sur la base d'une PCR multiplex emboîtée. La divergence des allèles *agr* permet de séparer l'espèce *S. aureus* en quatre fonds génétiques distincts : *agr 1*, *agr 2*, *agr 3* et *agr 4* (Vandenesch *et al.*, 2012). Il est supposé que c'est l'activation du système *agr* qui permet le passage d'une colonie commensale à une colonie pathogène (Antunes *et al.*, 2010).

VI.1.3.2. Méthodes fondées sur le séquençage

A. PCR-séquençage du gène *tuf*

L'amplification-séquençage du gène *tuf* s'est substituée aux multiples techniques conventionnelles parfois délicates pour l'identification des staphylocoques. La technique est généralement utilisée pour toutes les identifications non concluantes de souches par la technique du MALDI-TOF ou lors de résultats atypiques ou aberrants (Vandenesch, *et al.*, 2017).

B. *Multi locus sequence typing* (MLST)

Cette une approche qui combine la séquence de plusieurs gènes structuraux. Sept gènes ont été retenus pour *S. aureus* : *arcC*, *aroE*, *glpF*, *gmk*, *pta*, *tpi* et *yqiL*. Une base de données internationale contenant des isolats provenant de différents laboratoires à travers le monde est disponible sur internet (<http://www.mlst.net>). Le coût élevé, et la charge de travail importante (séquençage de sept gènes) sont ses principaux inconvénients (Blanc *et al.*, 2010).

VI.2. Méthodes de détection moléculaire des entérotoxines

Un outil moléculaire qui permet de détecter grâce à des amorces cibles et spécifiques ; un ou plusieurs gènes codants pour un ou plusieurs facteurs de virulence. Une démarche méthodologique qui ne pourra pas rechercher le produit d'expression, ni la présence d'entérotoxines staphylococciques. En effet, cet outil donne des éléments de réponses quant au pouvoir toxigène des souches isolées depuis une matrice alimentaire, et ce par la méthode la plus sensible et spécifique, qui est la *polymerase chain reaction* (PCR).

De nombreux tests PCR ont été développés pour détecter les gènes SE dans les souches de *S. aureus* isolées depuis des matrices alimentaires (Roussel et *al.*, 2015). Que ce soit de la PCR standard ou la reverse transcriptase polymerase chain reaction simple (q-PCR) ou multiplexe.

VII. L'antibiorésistance de *S. aureus* et son évolution

Les antibiotiques, couramment utilisés dans les pratiques médicales modernes, sont les médicaments les plus fréquemment prescrits; qui ont sauvé des centaines de millions de personnes au cours du dernier siècle (Liu et *al.*, 2019). La nourriture représente un véhicule important pour le transfert de la résistance aux antimicrobiens en raison de l'utilisation excessive et incontrôlée d'antibiotiques chez les animaux (Can et *al.*, 2017).

Les aliments peuvent transférer très efficacement les bactéries résistantes aux antibiotiques dans le tractus intestinal des consommateurs. C'est exactement dans l'intestin que peut se produire le transfert de gènes de résistance entre des bactéries non pathogènes et des bactéries pathogènes ou opportunistes (Pesavento et *al.*, 2007).

Par conséquent, de nombreuses émergentes et réémergentes bactéries résistantes aux antibiotiques sont devenues la nouvelle crainte mondiale (Abat et *al.*, 2018) puisqu'ils causent 700 000 décès par an (WHO, 2015), augmentant ainsi le taux d'échecs thérapeutiques, en particulier avec l'utilisation courante des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, et les multiples voies de transmission aux humains, notamment les aliments d'origine animale et en particulier la viande (Kassahun et Wongiel, 2019).

Depuis lors, *S. aureus* et le SARM ont été découverts chez des animaux producteurs d'aliments et de la viande vendue au détail, ce qui accroît les inquiétudes concernant l'exposition des humains à travers la chaîne alimentaire. Ainsi, la pathogénie staphylococcique n'est pas seulement responsable d'une grande variété de maladies animales et humaines (Mama et *al.*, 2019) mais peut également servir de réservoir de gènes de résistance (Fijalkowski et *al.*, 2016), favorisant le transfert de ces déterminants depuis les bactéries non pathogènes aux bactéries pathogènes et opportunistes (Martins et *al.*, 2013). Des gènes de résistance qui peuvent être soit dans l'ADN chromosomique soit dans l'ADN plasmidique.

VII.1. L'émergence des SARM

La résistance aux antibiotiques est un enjeu partagé entre les médecines humaine et vétérinaire, et l'émergence continue de souches bactériennes résistantes est classiquement mise en relation avec l'usage de ces molécules dans les différentes situations cliniques (Haenni et *al.*, 2018).

Selon l'OMS, l'antibiorésistance est un phénomène qui apparaît lorsqu'une bactérie évolue et devient insensible aux antibiotiques utilisés pour traiter les infections dont elle est responsable. Une souche dite « résistante » est une souche qui supporte une concentration d'antibiotiques plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des souches de la même espèce. Une situation critique qui résulte soit d'un usage massif d'antibiotiques en métaphylaxie ; associée ou non à leur emploi comme facteurs de croissance. Ce qui a conduit à des conséquences d'ordre économique, sanitaire ou agroalimentaire car il s'agit d'une propriété intrinsèque et inévitable du monde des micro-organismes et c'est un phénomène qui préside à l'évolution de ces espèces (Bourgault et *al.*, 2014) ; (El abdani, 2016).

Chaque année aux Etats-Unis, les souches de SARM sont responsables d'environ 100 000 cas d'infections avec un taux de mortalité d'environ 20% (Safarpour Dehkordi et *al.*, 2017). Les premières souches résistantes sont apparues dès l'utilisation de la pénicilline G dans les années 40. C'est l'un des plus préoccupants organismes résistants (Campbell et *al.*, 2014). Cette résistance est liée à l'acquisition d'un plasmide producteur de pénicillinase responsable de la sélection de souches résistantes à cet antibiotique qui est une résistance plasmidique et se propage donc très rapidement à plusieurs autres souches.

Chez les bactéries Gram-positives, lorsqu'une souche montre une résistance aux pénicillines du groupe M, elle est appelée « Résistante à la méticilline » ; aussi résistante à toutes les Bêta-lactamines y compris l'oxacilline (Snyder et *al.*, 2013). Elle est due à la production d'une autre protéine de liaison à la pénicilline (PBP2a) codée par le gène *mecA*, *mecB*, *mecC* ou *mecD* (Schwendener et Perreten, 2018) codant pour une « protéine liant la pénicilline » (PLP). Les PLP sont impliqués dans la biosynthèse et le remaniement du peptidoglycane ce qui donc explique la résistance des SARM au Bêta-lactamines par la faible affinité de celles-ci aux PLP2s. Il est peu probable que la résistance à la méticilline est chromosomique, et donc sa diffusion est plus lente mais maintien sa progression (Pesavento et *al.*, 2007).

Parmi les *Staphylococcus* spp., les gènes *mecA* et *mecC* se trouvent sur une classe unique d'éléments génétiques mobiles (EGMs), désignée par le chromosome *mec* de la cassette de staphylococcus (*SCCmec*) (Shore et Coleman, 2013). Par conséquent, des souches de staphylocoques résistantes à la méticilline sont apparues en raison de l'acquisition de ces éléments (Lakhundi et Zhang, 2018). Certains d'eux contiennent des gènes de résistances supplémentaires localisés dans les plasmides intégrés codant pour des résistances aux aminosides, macrolides et cyclines, rendant la souche multi-résistante et en fonction du fond génétique de la souche de *S. aureus* et du type de *SCCmec* acquis, existe une multitude de SARM différents (Gerard, et Cattoir, 2014).

Dans le cas des SARM nosocomiaux, une résistance aux fluoroquinolones, aux synergistines, à la fosfomycine et aux aminosides (sauf à la gentamicine) est fréquemment associée. Les glycopeptides, l'acide fusidique, le linézolide et la rifampicine restent généralement actifs sur ces souches (Perez, 2013).

En 2017, et pour la première fois, le gène *mecB* et *mecD* a été détecté chez *M. caseolyticus* (une bactérie catalase et oxydase positive apparentée au genre *Staphylococcus*) sur différentes îles génomiques appelées l'île de résistance de *M. caseolyticus* (Schwendener et *al.*, 2019), mais on en sait relativement peu sur l'épidémiologie des macrocoques (MacFadyen et *al.*, 2018).

Le développement des outils de biologie moléculaire tels le séquençage (*Multilocus Sequence Typing*) (Robinson et Enright, 2003) et la caractérisation de la cassette contenant le gène de résistance (*SCCmec*) (Ito et *al.*, 2004) ; a permis de distinguer trois grands clones pandémiques de SARM (Benito et *al.*, 2014) :

VI.1.1. Chez l'homme

A. SARM-associé aux hôpitaux (SARM-AH)

Le *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) est l'un des pathogènes nosocomiaux les plus répandus dans le monde et capable de provoquer un large éventail d'infections liées à l'hôpital (Lee, 2007).

Nous qualifions les infections à SARM-AH de nosocomiales si ces dernières apparaissent au moins 48 heures après l'admission dans un établissement de soins. Le séjour prolongé à l'hôpital, les soins dans l'établissement de santé, le traitement prolongé aux antibiotiques, les interventions chirurgicales et/ou le contact étroit avec des personnes infectées ou colonisées par le SARM sont des facteurs de risque pour attraper le SARM-AH (McCarthy et al., 2010).

En Algérie, des prévalences de 33,2% (204/614) et 42% (141/335) ont été rapportées pendant les périodes de 2003 à 2004 et de 2006 à 2007 respectivement dans les hôpitaux d'Alger (Ramdani-Bouguessa et al., 2006 ; Antri et al., 2010).

B. SARM-associé à la communauté (SARM-AC)

Il s'agit de souches isolées depuis des personnes en bonne santé et sans facteurs de risque liés aux soins (Akkou, 2016). Les SARM-AC et les SARM-AH appartiennent à différentes séquences-types et portent des types distincts de cassettes *SCCmec*.

De plus, les souches de SARM-AC sont porteuses de facteurs de virulence tels que la leucocidine de Panton-Valentine (*pvl*) (Vanderhaeghen et al., 2010). Il peut également servir de source d'infections acquises dans la communauté.

En Algérie, 35% de souches de SARM-AC ont été isolées parmi 365 *S. aureus* responsables d'infections invasives et non invasives durant les années 2006 et 2007 (Antri et al., 2010).

VI.1.2. SARM-associé au bétail (SARM-AB)

Chez l'animal, les premières descriptions du portage de staphylocoques remontent à 2004, suite à des infections massives chez les porcs et leurs éleveurs (Armand-Lefevre *et al.*, 2005). Deux ans après; aux Pays-Bas, l'apparition d'infections humaines par des souches d'origine porcine a suscité un large questionnement scientifique sur le risque de transmission des staphylocoques spécialement le SARM d'origine animale aux humains (Krziwanek *et al.*, 2009). Plusieurs enquêtes de prévalence, ont également été menées (Jouy *et al.*, 2008) avec un isolement de certain nombre de lignées de SARM identifiées parmi un large éventail d'espèces de mammifères et d'oiseaux. Par conséquent, la possibilité l'existence d'une zoonose émergente a été évoquée.

Et ce n'est que récemment que le SARM a été isolé du bétail (Smith et Pearson, 2011). Ainsi, ces animaux peuvent servir de réservoirs, et la bactérie peut être transmise aux personnes ayant un contact étroit avec des animaux colonisés par le SARM. Récemment, il y a eu un intérêt croissant pour la présence de *S. aureus*, en particulier le SARM dans la viande et les produits carnés (Jackson *et al.*, 2013).

VII.2. L'apparition de résistance à la Vancomycine (SARV)

Un antibiotique de la famille des glycopeptides qui constitue la référence pour le traitement des infections à SARM (Fauchère et Avril, 2002). Les premières souches de *S. aureus* de résistance diminuée à la vancomycine (VISA) ont été décrites au Japon en 1997, et ont depuis été signalées partout dans le monde (Howden *et al.*, 2010).

Depuis, une nomenclature de résistance à la vancomycine a été adoptée en fonction de la CMI: Les souches *Staphylococcus aureus* de résistance intermédiaire à la vancomycine dites *Vancomycin-Intermediate Staphylococcus aureus* « VISA »; les souches *Staphylococcus aureus* de résistance intermédiaire aux glycopeptides dites *Glycopeptides-Intermediate Staphylococcus aureus* « GISA » (Fauchère et Avril, 2002); les souches *S. aureus* avec résistance hétérogène dites *heterogeneously-resistant S. aureus* « VRSA » (Clark *et al.*, 2005); et les souches *S. aureus* résistant à la vancomycine/ *S. aureus* résistant aux glycopeptides dites *Vancomycin-Resistant S. aureus* « VRSA »/ *Glycopeptide-resistant S. aureus* « GRSA » (Walsh et Howe, 2002).

Bien que les épidémies de VISA ne soient pas signalées, l'identification aux Etats-Unis, en Inde et en Iran, de souches entièrement résistantes à la vancomycine (VRSA) constitue une menace certaine (Lindsay, 2010). Force est de dire que la fréquence des souches résistantes à la vancomycine restent très rares comparée à la méticilline (<10%) (Howden et *al.*, 2010) ; à des exceptions près (Sancak et *al.*, 2005).

VIII. Le pouvoir pathogène de *S. aureus*

Les infections par *S. aureus* sont caractérisées d'une part par le caractère destructif, profond et suppuré de la porte d'entrée ou des foyers métastatiques, la rapide dissémination des métastases septiques et l'existence de signes généraux marqué, d'autre part d'une persistance prolongée plusieurs dizaines d'année.

Le *S. aureus* peut être responsable de deux types d'infections : les infections suppuratives et les toxémies staphylococciques (Proctor et *al.*, 1998).

VIII.1. Les infections suppuratives superficielles et profondes

Aussi bien chez l'homme que chez les animaux, le *S. aureus* peut être à l'origine d'infections cutanées superficielles ou profondes qui peuvent évoluer de façon isolée ou entraîner des septicémies : Le furoncle, la folliculite, l'abcès, le panaris, l'anthrax, l'impétigo, la spondylodiscite, l'infection sur prothèse et les infections viscérales (Avril et *al.*, 2003 ; Nauciel, 2005).

VIII.1.1. Les infections chez l'homme

Le principal staphylocoque pathogène chez l'homme est le *Staphylococcus aureus*. Il s'agit d'un germe pyogène responsable de nombreuses infections qui sont principalement cutanées (abcès, furoncles, panaris et folliculites) ou muqueuses (otites, sinusites et conjonctivites).

Elles peuvent cependant s'étendre par extension locorégionale ou suite à une bactériémie et provoquer des infections suppuratives plus profondes (abcès multiples, arthrites, endocardites, pneumonies et ostéomyélites) (Brun et Bes, 2000).

VIII.1.2. Les infections chez les ovins et bovins

Chez le mouton, nous trouvons la dermatite staphylococcique qui peut se compliquer par l'ecthyma. Chez les adultes, les lésions sont ulcéreuses, suppurées, croûteuses et non prurigineuses ; au départ, un érythème précède la formation d'une papule qui s'ulcère. Une polyarthrite chez l'agneau et mammite gangréneuse chez la brebis peuvent se présenter (Boudnar-Kechih, 2019).

Staphylococcus aureus est responsable de nombreuses mammites cliniques chez les ruminants et est le principal agent de mammites sub-cliniques chez les bovins. Des infections cutanées comme l'impétigo ou des folliculites chez les bovins sont fréquemment dues à *S.aureus* (Hermans et *al.*, 2010 ; Barkema et *al.*, 2006 ; Akkou, 2016)

VIII.2. Les infections non suppuratives d'origine toxinique

Les infections toxiques staphylococciques regroupent le choc toxique staphylococcique, la maladie exfoliante généralisée, les toxi-infections alimentaires et la pneumonie nécrosante (Dinges et *al.*, 2000).

VIII.2.1. Le syndrome de choc toxique staphylococcique

Provoqué par la diffusion dans l'organisme de la toxines (*TSST-1*) ou de certaines entérotoxines (B, C) (Yarwood et *al.*, 2002). La particularité des toxines du choc toxique staphylococcique est d'être des superantigènes. Un phénomène qui va activer les lymphocytes T qui libéreront brutalement et massivement des cytokines pro-inflammatoires responsables des signes de choc (Gillet et *al.*, 2002).

Un syndrome accompagné d'une fièvre supérieure à 39°C, une hypotension artérielle et une érythrodermie scarlatiniforme généralisée, suivie 7 à 14 jours plus tard d'une desquamation intense et d'une atteinte multi-viscérale (Fanny et *al.*, 2008).

VIII.2.2. La toxine de « *Panton et Valentine* »

Elle est individualisée dans la pneumonie nécrosante n'est pas un superantigène mais détruit les polynucléaires et entraîne une nécrose du tissu pulmonaire et des muqueuses de voies aériennes (Gillet et *al.*, 2002).

VIII.2.3. Le syndrome d'exfoliation généralisée

Une pathologie rare caractérisée par une érythrodermie douloureuse initialement péri-orbitaire et péri-buccale, qui se généralise en 24 heures, et qui est suivie par un décollement bulleux, régressif en 2 à 4 jours sous antibiothérapie (Eveillard, 2007).

VIII.2.4. Les toxi-infections alimentaires à *S. aureus* (TIAC)

Selon les projections démographiques des Nations Unies, la population humaine tend à augmenter à 9,7 milliards en 2050 (United-Nations, 2019). Cette situation a déclenché une augmentation de la consommation alimentaire mondiale et une importance accrue à la sécurité alimentaire de la table à l'étable. Cependant, lorsque des agents pathogènes contaminent les aliments, ils peuvent provoquer des maladies d'origine alimentaire, souvent appelées «Toxi-infections alimentaires». Il s'agit d'une infection résultante de l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou leurs toxines (Kassahun et Wongiel, 2019).

VIII.2.4.1. Conditions requises pour une toxi-infection alimentaire à *S. aureus*

En sécurité sanitaire des aliments, les entérotoxines staphylococciques représentent la deuxième cause de toxi-infection alimentaire d'origine bactérienne dans le monde (Sergelidis et Angelidis, 2017) et un risque préoccupant pour la santé publique (Chairat et *al.*, 2015). Des toxines émétisantes, à l'exception de la TSST-1, qui sont thermostables, résistent à la cuisson et aux enzymes du tube digestif (Fanny et *al.*, 2008). De ce fait, l'assainissement d'un produit fortement contaminé par *S. aureus* n'est pas garanti par un traitement thermique, car celui-ci détruit les bactéries et non leurs toxines (Mebkhout F., 2019).

Il s'agit d'une intoxication alimentaire secondaire à la consommation d'aliments contenant des quantités suffisantes d'une (ou plusieurs) toxines préformées (Pu et *al.*, 2010); (Fijalkowski et *al.*, 2016); 20 ng à 1 µg d'entérotoxines staphylococciques sont capables de provoquer des épidémies rapides de maladie en 30 min à 8 heures pendant environ 24 heures (Ouoba et *al.*, 2019).

Pour le nombre de cellules bactériennes nécessaires pour produire des niveaux détectables d'entérotoxines; certaines études suggèrent que 10^5 à 10^6 UFC par g ou mL de *S. aureus* dans la nourriture sont généralement suffisante pour générer un épisode de toxi-infection alimentaire (Walker-York-Moore et *al.*, 2017).

VIII.2.4.2. Le risque pour le consommateur

Bien que le fardeau des maladies d'origine alimentaire est un problème mondial de santé publique, les régions Africaines classées par l'OMS ont les taux d'incidence et de mortalité les plus élevés, y compris les enfants de moins de cinq ans avec plus de 91 millions chaque année et 137 000 décès (WHO, 2015). En Algérie, plus de 15 233 cas de toxi-infection alimentaire avec 16 décès et des cas d'hospitalisation ont été enregistrés, entre 2016 et 2017. De plus, 14 wilayas ont eu plus de 200 cas en 2017 (Algerian Ministry of Health, 2018). Des chiffres qui sont toutefois probablement sous-estimés en raison d'une série de facteurs, y compris la notification non obligatoire des cas aux systèmes de surveillance appropriés, le manque de systèmes de surveillance rigoureux.

Comme tableau clinique, les symptômes peuvent variés entre des nausées, des vomissements sévères, des crampes abdominales, des maux de tête et de la diarrhée avec une hospitalisation pouvant évoluer vers la mort parmi les groupes sensibles (nourrissons, personnes âgées, patients affaiblis et personnes atteintes de maladies concomitantes) (Wang et *al.*, 2017). La diarrhée reste la principale cause de décès chez les enfants des pays en développement et pauvres en ressources (Odeyemi, 2016).

En termes de menace pour la santé publique, récemment dans les épisodes de toxi-infections alimentaires, le potentiel entérotoxigène d'espèces de staphylocoques à coagulase positive et négative a été de plus en plus reconnu dans les enquêtes épidémiologiques (Ouoba et *al.*, 2019). Cependant, la pathogénie staphylococcique n'est pas seulement responsable d'une grande variété de maladies animales et humaines (Mama et *al.*, 2019) mais peut également servir de réservoir de gènes de résistance (Fijalkowski et *al.*, 2016), favorisant le transfert de ces déterminants depuis les bactéries non pathogènes aux bactéries pathogènes et opportunistes (Martins et *al.*, 2013).

La nourriture représente un véhicule important pour le transfert de la résistance aux antimicrobiens en raison de l'utilisation excessive et incontrôlée d'antibiotiques chez les animaux (Can et *al.*, 2017). Par conséquent, de nombreuses émergentes et réémergentes bactéries résistantes aux antibiotiques sont devenues la nouvelle crainte mondiale (Abat et *al.*, 2018).

VIII.2.4.3. Les produits carnés et les intoxications staphylococciques

Le plus souvent, la viande et les produits carnés; ont été impliqués dans des incidents de toxi-infections alimentaires attribués à *S. aureus* (Normanno et *al.*, 2007) (Jackson et *al.*, 2013). De nombreuses recherches d'actualité ont été menées pour enquêter sur la présence de *S. aureus* dans différents types de viandes (Velasco et *al.*, 2018); (Kim et *al.*, 2018); (Jansen et *al.*, 2018); (Thapaliya et *al.*, 2017); (Shawish et Al-Humam, 2016); (Sergelidis et *al.*, 2015). Des matrices alimentaires très riches en nutriments et favorables pour une toxinogénèse.

Une toxinogénèse conditionnée par la croissance bactérienne (Tableau-2) et peut survenir à des températures entre 10C° et 45C° et à un pH neutre. Aussi, elle est inhibée lorsque la teneur en sel dépasse 10% et lorsque l'Aw est inférieure à 0,86 en milieu anaérobie ou inférieur à 0,92 en milieu aérobie quels que soient les autres paramètres (Garry et Juin, 2010). A noter que le *S. aureus* est capable de former des biofilms aussi bien sur les surfaces biotiques de l'hôte que sur les matériaux abiotiques des dispositifs médicaux (Oubekka, 2012), ce qui est le cas pour les ateliers de découpes et les surfaces de travail chez les bouchers.

Tableau 2. Conditions de survie, de croissance et de toxinogénèse de *S. aureus* (Buyser, 2008)

Paramètres	Croissance		Toxines (SE)	
	Optimum	Extrêmes	Production optimale	Limites de production
Température (°C)	35-41	6-48	34-40	10-45
pH	6-7	4-10	7-8	5-9.6
Activité d'eau	0.99	0.83-0.99	0.99	0.86-0.99
[Na Cl]	0-4	0-20	0-4	0-10
Atmosphère	Aérobie	Aéro-anaérobie	Aérobie	Aéro-anaérobie

Récemment, cependant, il y a eu un regain d'intérêt pour la sécurité alimentaire des consommateurs en ce qui concerne les produits typiques telle la «Merguez»; une saucisse crue d'origine Nord-Africaine largement consommée en Algérie (Hachemi et *al.*, 2019) ; qui a été fabriquée dans un environnement non industriel, caractérisée par une production par lots à petite échelle (Conter et *al.*, 2008) et favorable à la croissance des agents pathogènes (Ed-Dra et *al.*, 2018).

IX. Les saucisses crues de type « Merguez »

IX.1. Définitions

Les termes « saucisse » et « saucisson » sont dérivés du latin « *salsucia* » qui signifie une viande hachée salée. La saucisse et le saucisson sont constitués de boyau rempli de viande hachée et peuvent contenir de l'eau, des sucres et des épices. Le saucisson diffère de la saucisse par leur taille, le premier étant une grosse saucisse (Isaac-Budju, 2010).

L'appellation « Merguez » désigne, une saucisse fraîche, courte, de petit calibre et fortement pimentée consommée à l'origine presque exclusivement en Afrique du nord (Hachemi et *al.*, 2019).

Selon *l'arrêté interministériel du 19 chaoual 1417 correspondant au 26 février 1997, article 2 de la réglementation Algérienne*, la dénomination « Merguez » est réservée à une préparation qui ne peut être composée d'autres éléments que des viandes bovine et ovine et de graisses de ces animaux, additionnés ou non d'aromates d'épices et de condiments, à l'exclusion de tout abats et issues.

IX.2. Composition

Le choix de la matière première consiste en un tri et un choix des morceaux afin d'obtenir un mélange de maigre et de gras, elle est essentiellement constituée de la viande (bovine et ovine), de la matière grasse et du tissu conjonctif.

A. La viande

Nous entendons par la viande, l'ensemble des produits issus de la transformation des chairs des animaux de boucherie, c'est-à-dire carcasses et produits de découpe qui en découlent (Magras, et *al.*, 2009).

La Merguez est composée de viande bovine et ovine et ne doit pas présenter une teneur en tendons, en nerfs et aponévrose dépassant 5% conformément à *l'arrêté du 26 Février 1997 de la réglementation Algérienne*.

B. La matière grasse

Dans son article 4, le même arrêté stipule que les « Merguez » ne doivent pas présenter un taux de matières grasses totales, supérieure à 25%.

Seront tolérés les écarts n'élevant pas cette limite au de-là de 27%. Lorsqu'elle est trop abondante, elle perturbe la saveur du produit, une teneur de 20% rend la saveur médiocre. Le gras s'oxyde facilement et son altération est la principale cause de la dégradation de la qualité de la viande hachée (Rakansou, 2008).

C. Les boyaux

Un boyaux est une enveloppe qui permet la protection des produits de charcuterie cuits ou crus et enveloppe la viande hachée. Ils peuvent être de trois types :

- ☛ **Les boyaux synthétiques** : Elaborés à partir de substances cellulosiques. Ces boyaux de par leur solidité, leur transparence, leur facilité d'emploi et leur caractère esthétique, sont largement utilisés dans l'emballage des produits de charcuterie.
- ☛ **Les boyaux reconstitués** : Fabriqués à partir de fibres animales, des déchets de boyaux, de tendon et de peaux constituent la matière première de ces enveloppes.
- ☛ **Les boyaux naturels** : Sont les différents paries des intestins d'animaux de boucherie (bovin et ovin), la particularité de ces boyaux est leur perméabilité relative, ce qui permet de garder les saucisses crues comme les merguez juteuses et fraîches pendant plusieurs jours. C'est ce type qui est le plus souvent la source de contamination. (Penda, 1994).

D. Les additifs

Représentaient principalement par les épices, dont le rôle est l'apport d'arôme et de goût, mais certaines possèdent aussi des propriétés anti-oxydantes (Rakansou, 2008). Selon la réglementation Algérienne, la coloration des Merguez est permise au moyen de matières colorantes d'origine naturelle à l'exclusion de toutes autres, et ce dans les proportions généralement admises par les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication.

IX.3. La présentation à la vente

Les Merguez doivent être présentées dans une vitrine réfrigérée et vendues rapidement, car la perte de poids par dessiccation peut être importante à cause du faible diamètre des boyaux.

Selon la réglementation Algérienne, *l'arrêté du 26 Février 1997 dans son article 8* « L'exposition à la vente à l'air libre et ou sur la voie publique ainsi que la suspension des merguez à des crochets est interdite » ;

Une technologie de fabrication des Merguez qui nécessite un certain nombre de manipulations. D'où les possibilités de contamination exogènes qui viennent s'ajouter aux contaminations endogènes des produits. Raison pour laquelle, il est nécessaire de bien maîtriser les bonnes pratiques d'hygiène et de fabrication (BPH/F) afin de prévenir l'apport de germes et de limiter les risques de leur développement et une éventuelle toxino-génèse.

IX.4. La contamination des saucisses crues à *S. aureus*

Une contamination qui ; selon les diverses études menées (Tableau-3); peut avoir deux origines : Contamination endogène et exogène ; avec plusieurs sources.

Tableau 3. Synthèse des travaux menées sur la contamination de viande et dérivées par *S. aureus*

Auteurs (Année)	Pays	Denrée	Prévalence (%)
Hachemi et al., 2019*	Algeria	Sausage	25
Ed-Dra et al., 2018*	Marroco	Sausage	50
Chaalal et al, 2018	Algeria	Raw meat	29.4
Thapaliya et al., 2017	USA	Beef products	13.70
Thapaliya et al., 2017*	USA	Pork sausage	42.3
Osman, et al., 2017	USA	Beef meat	12
Tang et al., 2017	Denmark	Retail meat (Pork)	60
El seedy et al., 2017	Egypt	Meat products	16.60
Wang et al., 2017*	China	Meat and meat products	1.8
Arslan et al., 2017	Turkey	Beef	42.50
Dehkordi et al., 2017	Iran	Raw meat	26.31
Shawish et al., 2016*	Saudi-Arabian	Beef sausage	30
Ge et al., 2016	USA	Retail beef meats	24.50
Osman et al., 2015	Egypt	Beef raw meat	23.10
Sergelidis et al., 2015	Greece	Carcasses	18
Ndahi et al., 2013*	Nigeria	Meat products	9.15
Benito et al., 2014	Spain	Meat	7
Jackson et al., 2013	Georgia	Retail beef meat	63
Pesavento et al., 2007	Italy	Beef meat	29.41
Normano et al., 2007*	Italy	Meat/Meat products	9.79
Ranucci et al., 2004*	Italy	Raw pork sausage	11.77

(*) Les travaux réservés aux saucisses

Elle peut résulter d'une contamination d'origine animale ; qui représente un danger à risque important car l'agent pathogène et ses toxines diffusent dans tout l'organisme à partir du site d'inoculation tel est le cas des mammites staphylococciques (Sygroves, 2003) ; (Akkou, 2016). La mauvaise qualité de la viande de départ, peut résulter de plusieurs facteurs : Une contamination des carcasses par le contenu intestinal et/ou digestif au cours de l'abattage et qui provoque « la bactériémie d'abattage » ; également, le stress que les animaux subissent avant abattage, la saison, la densité des animaux, la durée de transport (Odetokun et *al.*, 2018), ainsi que l'hygiène de l'abattoir. Ce qui met en avant l'importance de la stabulation dans le processus d'abattage des animaux ; qui constitue en effet une période d'observation et de repos de l'animal pendant laquelle la diète hydrique s'effectue. En effet, une absence de diète hydrique peut engendrer la bactériémie postprandiale préjudiciable à la qualité hygiénique de la viande (Youbare, 2014).

La contamination peut être exogène, avec une origine humaine, animale ou environnementale (Hiron, 2007). Les sources peuvent être très variées : Un manque d'hygiène, une recontamination due à des conditions sanitaires et hygiéniques défectueuses (Sergelidis et *al.*, 2017), le nombre de manipulations que les saucisses subissent par le boucher tout au long des procédés de fabrication (Sergelidis et *al.*, 2015) ainsi que la qualité de la manipulation sont une éventuelle source de contamination (Simon et *al.*, 2007). Egalement, le non contrôle des processus de stockage, la contamination manu-portée, le manque de formation du personnel, et les conditions d'hygiène dans les industries alimentaires (Simon et *al.*, 2007) ; (Ed-Dra et *al.*, 2017), ce sont d'éventuels facteurs influençant la qualité de la viande et par conséquent celle des saucisses crues vendues en Algérie.

Les consommateurs, ont eux aussi, leur part de responsabilité avec divers facteurs de risques liés aux comportements de consommation mais aussi aux conditions de conservation (le lieu et le moment de consommation, la durée et la température de conservation, les conditions de réfrigération (Hachemi et *al.*, 2019), ce qui renforce le concept de qualité qui exige traçabilité et contrôle de l'étable à la table.

*APPROCHE
METHODOLOGIQUE*

APPROCHE METHODOLOGIQUE

"Necessity, who is the mother of invention."

— Plato

Malgré le fait que la Merguez soit, un produit typique de l'Afrique du Nord ; et la variété la plus populaire de produits carnés largement consommée en Algérie ; les données concernant la détection de *S. aureus* dans les saucisses sont récentes et limitées à l'étude marocaine décrite par Ed-Dra et *al.*, (2018) et quelques études menées en Italie (Ranucci et *al.*, 2004), en Turquie (Aydin et *al.*, 2011), aux États-Unis (Campbell et *al.*, 2014) et en Arabie saoudite (Shawish et *al.*, 2016).

Malheureusement, à notre connaissance, il n'y a pas eu d'études publiées en Algérie concernant les Merguez que ce soit dans son volet qualitatif ou quantitatif. Et ce, malgré les remarquables changements dans le comportement des consommateurs Algériens ces dernières années et la richesse de la saucisse en nutriments, très favorable à la croissance des pathogènes; qui sont pour la plupart inhibés, sauf *S. aureus* qui est capable de se développer et sécréter ses toxines dans un large éventail de conditions environnementales (Ed-Dra et *al.*, 2018).

Pour toutes ces raisons, nous avons jugé important de mettre l'accent sur la Merguez dans la société Algérienne. D'abord, pour enquêter sur ses modes de consommation, aussi pour estimer l'impact d'une éventuelle contamination par *S. aureus* sur la santé des consommateurs Algériens, afin de déterminer l'ampleur du problème et les différents facteurs de risque liés à la consommation de ce produit de charcuterie. Au meilleur de nos connaissances, le présent travail de recherche est la première étude sur les saucisses en Algérie; aussi bien dans son volet bactériologique, moléculaire mais aussi pour les enquêtes de consommation.

Dès lors, nos objectifs qui s'enregistrent dans un cadre d'une thèse de doctorat, sont les suivants :

- ▽ Estimer le niveau, les prévalences et la distribution de la contamination des Merguez par *S. aureus* préparées et vendues au niveau de boucheries de plus de quarante communes d'Alger, réparties sur les treize Daira (Sidi M'hamed, Bir Mourad Rais, Bab El Oued, El Harrach, Hussein Dey, Dar El Beida, Bouzareah, Cheraga, Zeralda, Birtouta, Daira, Beraki, et Rouiba) de la capitale.
- ▽ Evaluer la qualité bactériologique à *S. aureus*, des saucisses artisanales (Merguez) vendus à la capitale par un isolement des *Staphylococcus spp.* Puis, identification phénotypique et dénombrement des souches de *Staphylococcus aureus* isolées par la méthode de référence ISO 6888-1; suivie par des tests de confirmation valides et complémentaires
- ▽ Etudier la sensibilité aux antimicrobiens des souches de *Staphylococcus spp.* et *S. aureus* par une caractérisation du profil de résistance, par la méthode de diffusion de disques sur gélose et des E-test.
- ▽ Etudier la diversité microbienne des différentes espèces isolées dans les saucisses crues par MALDI-TOF MS et l'avancement de données épidémiologiques sur l'origine éventuelle des *S. aureus* isolées.
- ▽ Réaliser une caractérisation du profil moléculaire et la recherche de facteurs de virulence pour les souches isolées de Staphylocoques par qPCR, et PCR Standard.
 - Recherche des gènes de résistance (*mecA*, *mecC*)
 - Recherche de facteurs de virulence (*tsst-1*, *pvl*)
 - Recherche des gènes codants pour les entérotoxines (*sea*; *seb*; *sec*; *sed*; *see*; *seg*; *seh*)
- ▽ Estimer le risque, sur la base de deux études épidémiologiques.
 - La première vise à identifier les habitudes de consommation et estimer l'implication ou l'impact de certains facteurs de risque sur l'incidence des épisodes de toxi-infections alimentaires liés aux comportements des consommateurs Algériens de viandes rouges et Merguez.
 - La seconde, cherche à étudier par une analyse d'Odds ratio, les différentes catégories de la population à risque, l'évolution des épisodes de toxi-infection alimentaire (Hospitalisation) et le comportement médical des patients intoxiqués.

I. Lieu d'études

Notre étude a été menée à Alger, la capitale de l'Algérie. Avec ses 3.416 millions d'habitants, elle est la ville la plus peuplée. Alger est limitée par la mer Méditerranée au Nord, la Wilaya de Blida au Sud, la Wilaya de Tipaza à l'Ouest et la Wilaya de Boumerdès à l'Est. Elle est constituée de 13 Daïras et de 57 communes qui s'étendent sur une superficie de 1190 Km². Une zone caractérisée par un climat méditerranéen tempéré. et ses longs étés chauds et secs.

II. Etude de la qualité des Merguez et contamination par *S. aureus*

II.1. Corpus, période et type de prélèvements

C'est entre Juin 2015 et Avril 2018 que nous avons récolté nos échantillons de saucisses crues traditionnelles type « Merguez ». Il s'agit de produits de charcuterie fabriqués dans un environnement non industriel, caractérisés par une production par lots à petite échelle selon une méthode traditionnelle.

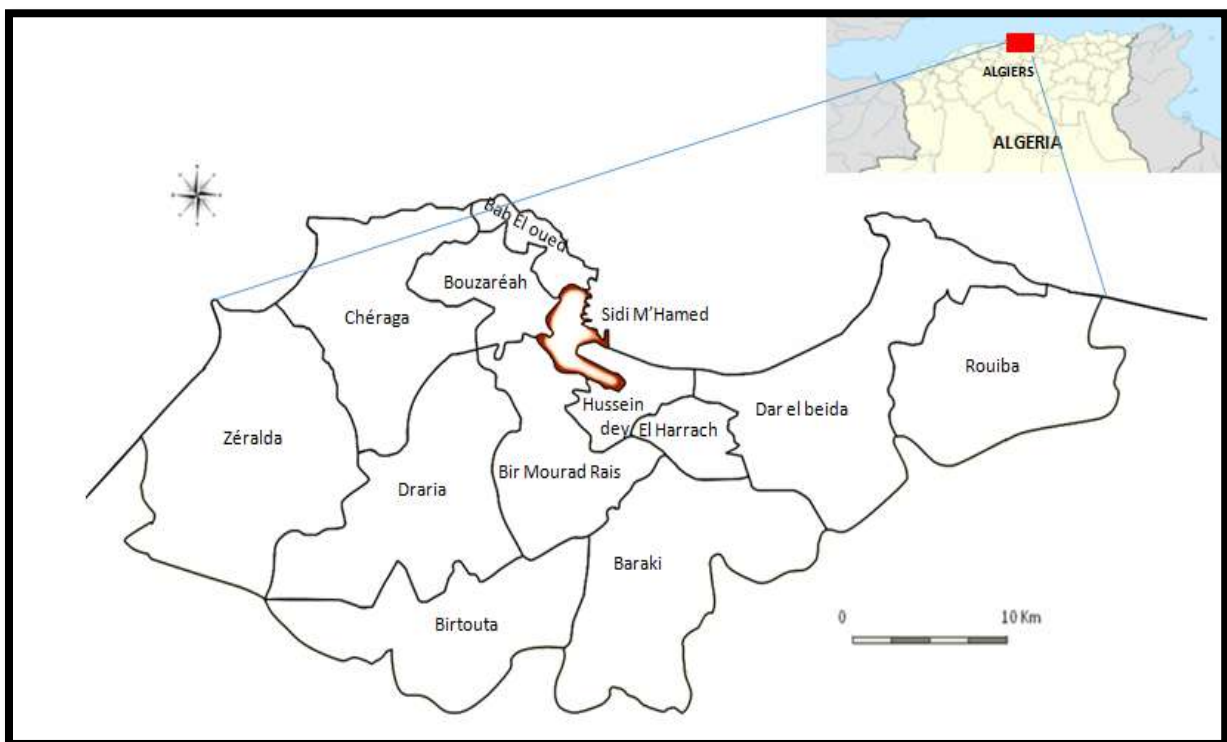


Figure2. La répartition géographique des zones d'études comprend 460 sites d'échantillonnage (Boucheries) réparties dans dix (13) départements (Plus de 50 communes) d'Alger, capitale d'Algérie. (Carte personnelle basée sur des cartes de délimitation géographique fournies par le département d'Alger)

Les échantillons ont été collectées aléatoirement depuis trois cent (460) boucheries situées dans treize (13) départements (Dairas) d'Alger, avec environs cinquante (50) communes situées dans les zones urbaines et péri-urbaines d'Alger, la capitale d'Algérie (Sidi M'hamed, Bir Mourad Rais, Bab El Oued, El Harrach, Hussein Dey, Dar El Beida, Bouzareah, Cheraga, Zeralda, Birtouta, Beraki et Rouiba) (Figure-2). Nous avons pris un seul échantillon par boucherie ; mais de lots différents.

Les Merguez ont été obtenues aseptiquement depuis les vitrines et environ 500 g de saucisses crues ont été envoyées au laboratoire à 4°C pendant ≤ 2 heures (Norme ISO / FDIS 17604). En aucun cas, l'échantillon n'a été congelé. Le contact direct avec l'échantillon s'est effectué dans des conditions d'asepsie strictes (ISO 7218, 2003).

Le traitement des échantillons a été réalisé selon la norme ISO 6887-2 :2003 propres aux viandes et ses dérivées. En résumé, 25 g de l'échantillon a été rajouté à 225 mL d'eau peptonée tomponée dans un sac stomacher, le tout est broyé par la suite pour servir à la préparation de la suspension mère (10^{-1}). Avec laquelle nous avons réalisé nos dilutions décimales (Figure-3).



Figure 3. Analyse bactériologique des Merguez selon la norme ISO 6888-1
(Photos personnelles, prises en Octobre 2016)

II.2. Méthodologie de travail

II.2.1. Analyse bactériologique et antibiogramme

A. Analyse bactériologique

L'isolement et l'identification microbiologique ont été réalisés selon les techniques recommandées par la norme ISO 6888-1:1999 de l'Organisation internationale de normalisation, pour le dénombrement du *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus* spp. – *Partie 1 : Technique utilisant le milieu gélose Baird-Parker enrichi au jaune d'œufs et au tellurite de potassium*. La température d'incubation était de 37°C pendant 24 à 48 heures. Toutes les analyses microbiologiques des échantillons prélevés se sont déroulées au niveau du laboratoire d'HIDAOA de l'Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire D'Alger.

Cinq (05) colonies présumées typiques (Figure-4) de *S. aureus* (noires, entourées d'une zone claire) ont été repiquées et identifiées par des méthodes conventionnelles (Coloration Gram, test de catalase, fermentation du mannitol et capacité à coaguler le plasma de lapin). Suivi par un test d'agglutination au latex (Figure-5) Pastorex Staph plus® (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) et une identification biochimique par galerie API Staph® (Figure-6).



Figure 4. Colonies de *Staphylococcus aureus* sur géloses Baird-Parker et Chapman.

(Photos personnelles, prises en Juillet 2017)

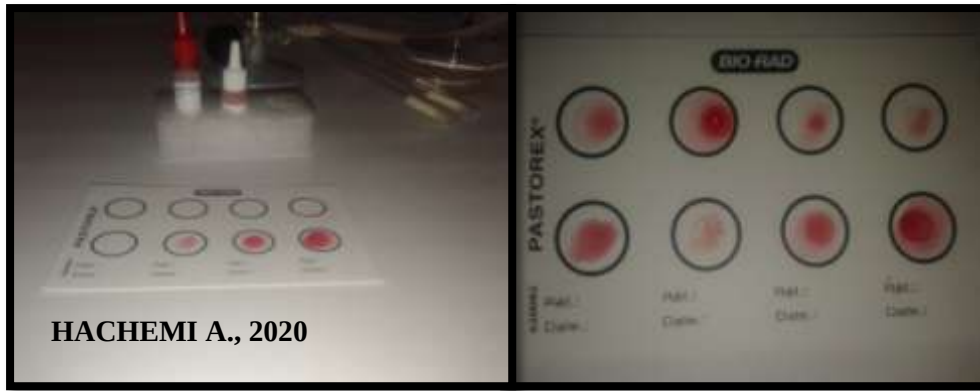


Figure 5. Test d'agglutination au latex Pastorex Staph Plus®
(Photos personnelles, prises en Juillet 2017)



Figure 6. Identification biochimique par galerie API Staph®
(Photo personnelle, prise en Juillet 2017)

Les isolats qui ont répondu positivement aux tests mentionnés ci-dessus, ont été considérés comme des souches de *S. aureus*.

La qualité des saucisses dans notre étude, a été évaluée et interprétée avec le règlement (CE) n° 2073/2005 concernant les critères microbiologiques applicables aux denrées alimentaires et l'arrêté interministériel du 2 Moharram 1438 qui correspondant au 4 octobre 2016 fixant les critères microbiologiques des denrées alimentaires. La mauvaise qualité des Merguez est dite de « Qualité non satisfaisante » quand le niveau de contamination dépasse 3.70 log UFC/g. En revanche, une bonne qualité de Merguez est dite de « Qualité satisfaisante » quand la contamination par *S. aureus* est ≤ 2.70 log UFC/g. Par contre, « une Qualité acceptable » s'attribue à un niveau de contamination à *S. aureus* entre log 20.70 et log 3.70 UFC/g.

B. Etude de la sensibilité des souches aux antibiotiques

Une première étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée sur 21 souches de *S. aureus* au niveau du laboratoire de microbiologie à l'hôpital « Salim Zmirli ». Toutes les souches ont été confirmées selon la méthode standard de diffusion de disques sur gélose Müller-Hinton (Figure-7). Un panel de 16 antibiotiques a été testé (charge en $\mu\text{g}/\text{disque}$) (Sirscan, France) : penicilline G (1UI), céfoxitine (30), oxacilline (1), vancomycine (30), teicoplanine (30), érythromycine (15), gentamicine (10), cirpofloxacine (5), fosfomycine (200), rifampicine (30), ofloxacine (5), chloramphénicol (30), tétracycline (30), lévofloxacine (5), kanamycine (30) et triméthoprim/sulfaméthoxazole (1.25/23.75). Un indice de résistance multiple (MAR) a été calculé.



Figure 7. Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « Salim Zmirli »

(Photos personnelles, prises en Fevrier 2018)

Une deuxième étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée sur 84 souches de *Staphylococcus spp.* et *Macroccoccus caseolyticus* et ce, selon la même méthode au niveau de l'Unité de recherche sur les maladies infectieuses et tropicales émergentes (URMITE), à l'IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille-Université, Marseille, France (Figure-8). Quatre-vingt quatre (84) souches de *Staphylococcus spp.* et de *Myrococcus caseolyticus* isolées depuis des Merguez ont été testés contre un panel de 16 autres antibiotiques (charge en $\mu\text{g}/\text{disque}$) (Sirscan, France) : penicilline G (1UI), céfoxitine (30), oxacilline (1), vancomycine (30), teicoplanine (30), clindamycine (2), Erythromycine (15), pristnamycine (15), gentamycine (10), ciprofloxacine (5), linézolide (30), fosfomycine (200), doxymycine (30), acide fusidique (10), rifampicine (30), et triméthoprim/sulfaméthoxazole (1.25/23.75).



Figure 8. Etude de sensibilité aux antibiotiques des souches isolées « IHU, Marseille »
(Photo personnelle, prise en Septembre 2018)

Les souches ont été classées résistantes conformément à la référence EUCAST 2017 pour tous les antibiotiques testés, à l'exception de l'oxacilline, et la pristinamycine, qui ont été évalué selon EUCAST 2013 et la doxymycine selon CASFM-2008.

II.2.2. Etude moléculaire

A. Etude de diversité microbienne par MALDI-TOF MS

Nos souches (84 souches de la 2^{ème} partie d'étude) ont été identifiées (Figure-8) (Annexe-1) par MALDI-TOF MS appelée *Matrix Assisted Laser Desorption Ionization-Time of Flight*. Une technique révolutionnaire, rapide, et peu coûteuse, avec une efficacité élevée (99,1%).

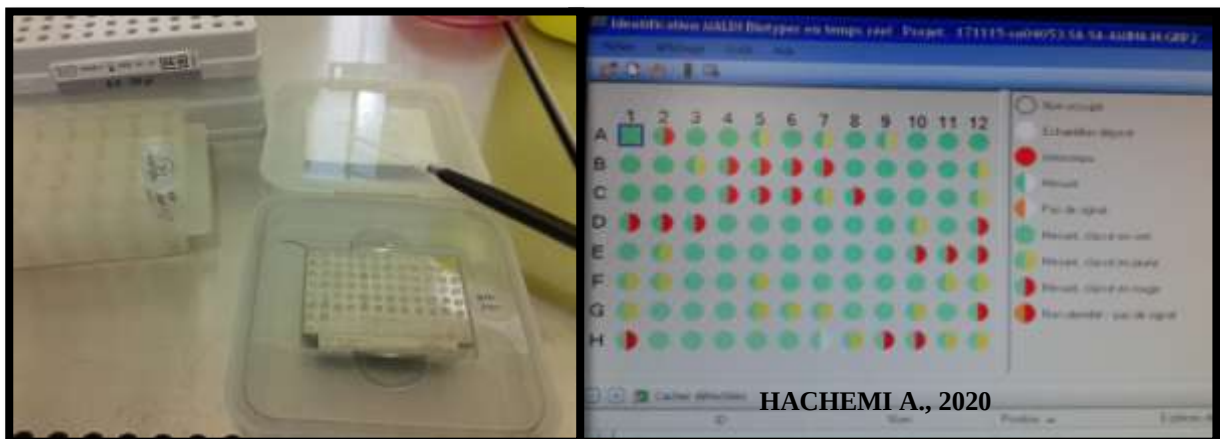


Figure 9. Préparation de la plaque MALDI-TOF et analyses sur Biotyper en temps réel.

(Photos personnelles, prises en Septembre 2018)

B. Caractérisation moléculaire

Après récupération et décongélation de toutes les souches. Un total de 200µL de l'ADN a été extrait à partir d'une suspension bactérienne par le kit QIAamp Tissue (Qiagen, Hilden, Allemagne). Ce kit contient des réactifs qui permettent la purification d'ADN à partir des tissus en utilisant un robot automatique EZ1 (Figure-10) (QIAGEN-BioRobot® EZ1, Tokyo, Japon). Les étapes de l'extraction d'ADN ont été suivies selon les instructions du fabricant. L'EZ1 réalise une extraction d'ADN à partir de 14 échantillons durant 15 minutes.

Toute la manipulation a été menée dans une hotte de biosécurité à flux laminaire. L'ADN génomique a été stocké à -20 °C dans des conditions stériles jusqu'à son utilisation dans les plaques de PCR. Le contrôle de la qualité d'extraction d'ADN a été réalisé à l'aide du spectrophotomètre/Nanodrope (Thermo Scientific, Pennsylvania, USA) lié à un microordinateur. Ce dernier permet la quantification des acides nucléiques sous forme de spectre.



Figure 10. Le robot automatique EZ1 ; (QIAGEN-BioRobot® EZ1, Tokyo, Japon).

(Photo personnelle, prise en Décembre 2018)

B1. PCR en temps réel (qPCR)

Après l'extraction, tous les échantillons d'ADN ont subi une amplification par qPCR (Figure-11). Une opération réalisée sous des conditions aseptiques dans une pièce isolée et sous une hotte à UV pour éviter toute contamination, avec le port de gants stériles.

Notre mix a été préparé avec l'addition de Mix Roche (Roche Diagnostics, Meylan, France) contenant la Taq polymérase, des amorces (*primers*) et de la sonde.



Figure 11. Appareil de PCR quantitative en temps réel, piloté par un ordinateur qui permet l'acquisition et le suivi en temps réel des données ainsi que leur traitement. (qPCR CFX96™, Bio-Rad, California, USA). (Photos personnelles, prises en Janvier 2019)

Une qPCR qui a été réalisé sur tous nos échantillons d'ADN bactériens isolés et ce, pour les gènes de virulence (*tsst-1*, *pvl*) et les gènes de résistance à la méthicilline *mecA* et *mecC* (Figure-11).

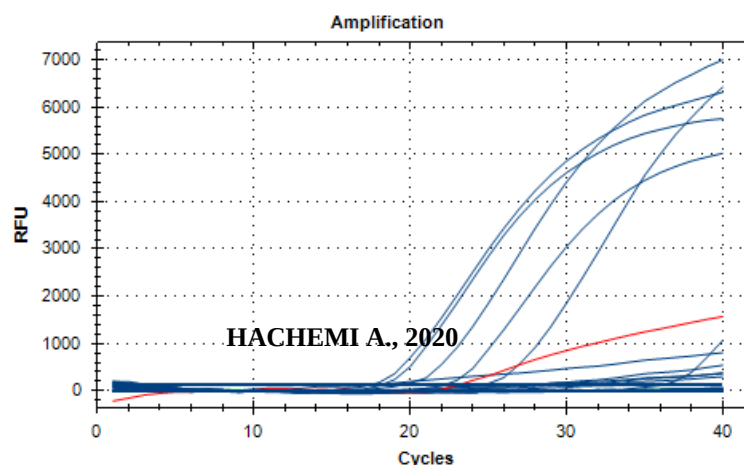


Figure 12. Détection du gène *mecA* par qPCR.

(Photo personnelle, prise en Janvier 2019)

B2. PCR standard

Les échantillons ont subi une amplification en chaîne par polymérase dans un appareil programmable : Thermocycleur (PCR system 2700, AB Applied biosystems, California, USA) (Figure-13). Les amorces utilisées lors de la PCR classique sont spécifiques des gènes d'entérotoxines staphylococciques (*sea* à *seh*) que nous avons commandé.



Figure 13. Amplification en chaîne par polymérase dans un thermocycleur.
(Photo personnelle, prise en Décembre 2018)

Comme seconde étape, nos produits de PCR ont subi une migration sur gel d'agarose. La révélation du profil électrophorétique a été réalisée à l'aide de l'imageur moléculaire (Invitrogen Life Technologies E-Gel Imaging System, USA) (Figure-14).



Figure 14. Imageur moléculaire pour la lecture du gel d'électrophorèse
(Photo personnelle, prise en Décembre 2018)

III. Enquêtes épidémiologiques

III.1. La première enquête épidémiologique

III.1.1. Corpus, période et type d'échantillonnage

Une enquête réalisée de Juin à Novembre 2018 ; a inclus un total de 700 questionnaires structurés et distribués aléatoirement aux consommateurs Algériens de viandes rouge, des mêmes boucheries déjà ciblées.

III.1.2. Méthodologie de travail

Il s'agit de questions fermées utilisées pour recueillir des informations sur divers aspects de consommation de saucisses crues de type « Merguez » et des problèmes de toxi-infections alimentaires qui en découlent. Les questions étaient divisées en trois axes : Les caractérisations démographiques des consommateurs de Merguez (Age, sexe, résidence, avoir des enfants, lieu d'achat), les habitudes de consommation des Algériens (Lieu, saison, et moment de consommation) et les conditions de conservation et de stockage des Merguez (Durée du transport, réfrigération et congélation des saucisses crues).

Des variables que nous avons cherché à étudier leur relation avec la survenue des épisodes de toxi-infection alimentaires suite à la consommation de Merguez, et ce par une analyse d'estimation de risque « Odds ratio ».

III.2. La deuxième enquête épidémiologique

III.2.1. Corpus, période et type d'échantillonnage

Entre Août 2018 et Juin 2019, une enquête épidémiologique transversale a été réalisée et comprenait huit cent (800) questionnaires structurés et distribués au hasard aux consommateurs Algériens de viande rouge. Notre enquête a inclus un total de 261 boucheries de dix (10) départements, avec cinquante (50) municipalités d'Alger, capitale de l'Algérie (Bab El Oued, Beraki, Bir Mourad Rais, Cheraga, Dar El Beida, Draria, El Harrach, Hussein Dey, Rouiba et Zeralda).

III.2.2. Méthodologie de travail

Le questionnaire était auto-administré, cependant, les consommateurs étaient assistés par le chercheur si besoin. Le temps moyen pour terminer l'enquête était de 10 min.

La première catégorie comprenait des questions concernant les caractéristiques démographiques des répondants (âge, sexe, lieu d'achat, avoir des enfants, vivre ou non en famille et niveau d'études). La deuxième catégorie visait les informations concernant la consommation liée aux groupes de personnes à risque : Jeunes, vieux, femmes enceintes et consommateurs immuno-déficients (YOPIs).

Concernant la troisième catégorie, cette dernière a étudié l'évolution des toxi-infections alimentaires (consommateurs malades et/ou hospitalisés) après la consommation de saucisses.

Le dernier volet, a visé le comportement d'utilisation d'antibiotiques par le consommateur Algérien de viande rouge à la suite d'une maladie d'origine alimentaire (raisons de la consultation, prescription d'antibiotiques/automédication et interruption de l'antibiothérapie).

2^{ème} PARTIE

*REVUE DES TRAVAUX DE
RECHERCHE*

« Partie expérimentale »

Epidémiologie de consommation des saucisses crues type « Merguez », et leur qualité bactériologique au Staphylococcus aureus.

Article. 1

Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of Staphylococcus aureus isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning.

A. HACHEMI, S. ZENIA, M-F. DENIA, M. GUESSOUM, M-M. HACHEMI and K. AIT-LOUDHIA.

Revue Veterinary World, 2019, 12(8): 1240-1250

Avant-propos

Article 1.

Étude épidémiologique des saucisses en Algérie: Prévalence, évaluation de la qualité et résistance aux antibiotiques des isolats de *Staphylococcus aureus* et les facteurs de risque associés aux habitudes de consommation affectant les toxi-infections alimentaires.

Staphylococcus est un genre composé de deux groupes: coagulase positive et négative (Götz et *al.*, 2006). Dans le groupe des staphylocoques à coagulase positive, *Staphylococcus aureus* est considéré comme étant la troisième cause des maladies alimentaire dans le monde (Alharbi et *al.*, 2014). Les Centres de contrôle des maladies aux États-Unis ont estimait, en 2018, que 48 millions de personnes tombaient chaque année d'une maladie d'origine alimentaire, avec 128 000 hospitalisées et 3 000 décédait (CDC, 2018). Cette situation est d'autant plus grave dans les pays émergents, aux conséquences économiques dévastatrices (Cohen et *al.*, 2006). Selon le Ministère Algérien de la Santé, plus de 15 233 cas de toxi-infections alimentaires ont été enregistrés entre 2016 et 2017, avec 16 décès, dont *S. aureus* était la deuxième principale cause (Algerian Ministry of Health, 2017).

En outre, *S. aureus* a été identifié par l'organisation mondiale de la santé (OMS) comme une préoccupation internationale en raison de sa multi-résistance aux antimicrobiens (WHO, 2017). De plus, *S. aureus* peut être une cause de mammites chez les vaches et les petits ruminants, ce qui fait que les animaux sont des porteurs asymptomatiques ou souffrent de problèmes respiratoires, gastro-intestinaux ou cutanés (Doyle et *al.*, 2012). Aussi, la présence de souches résistantes aux antibiotiques est devenue un problème zoonotique émergent constituant une préoccupation majeure pour la santé publique (Jamali et *al.*, 2015) et des véhicules importants pour le transfert des facteurs de résistance aux antimicrobiens dans le tractus intestinal des consommateurs (Beyene et *al.*, 2017). Malgré les considérables efforts de recherche, de nombreuses personnes souffrent encore d'infections à staphylocoques (Rong et *al.*, 2017).

S. aureus est un pathogène commun, associé aussi bien aux maladies communautaires que nosocomiales acquises (Gharsa et *al.*, 2016), et la possibilité de traitement reste compliqué (Jackson et *al.*, 2013), en particulier avec l'apparition de la résistance à la méthicilline trouvée chez plusieurs espèces d'animaux producteurs de viande, y compris porcs, poulets et bovins (Thapaliya et *al.*, 2017), ce qui accroît les inquiétudes concernant l'exposition humaine à *S. aureus* tout au long de la chaîne alimentaire. Les matières premières qui nous ont intéressés sont spécifiquement les saucisses crues à base de mouton/bœuf épicés, une spécialité Nord-Africaine appelée «Merguez».

La Merguez est considérée comme la variété la plus populaire de produits carnés largement consommée en Algérie. De par sa composition nutritionnelle, la saucisse constitue un milieu riche très favorable à la croissance des pathogènes; la plupart des agents pathogènes sont inhibés, sauf *S. aureus* qui est capable de se développer dans un large éventail de conditions environnementales (Ed-Dra et al., 2018). Des études suggèrent qu'en général, le nombre de *S. aureus* requis pour provoquer une épidémie de toxi-infections alimentaires aux staphylocoques est d'environ 10^5 - 10^6 UFC / g ou mL (Kadariya et al., 2014), et qu'il est associé à des nausées, des vomissements, de la diarrhée et des douleurs abdominales quelques heures après l'ingestion (Sergelidis et al., 2017). En conséquence, des recherches ont été menées pour étudier la présence de *S. aureus* dans différents types de viandes, comme décrit précédemment [Velasco et al., 2018) ; Sergelidis et al., 2015).

Malgré le fait que la Merguez soit un produit typique de l'Afrique du Nord, les données concernant la détection de *S. aureus* dans les saucisses sont limitées à l'étude marocaine décrite par Ed-Dra et al., (2018) et quelques études menées en Espagne (Gonzalez-Fandos et al., 1999), en Italie (Ranucci et al., 2004), en Turquie (Aydin et al., 2011), aux États-Unis (Campbell et al., 2014) et en Arabie saoudite (Shawish et al., 2016). Un risque accru de maladies d'origine alimentaire qui est bien existant et causé par les saucisses crues, mais malheureusement, il n'y a pas eu d'études sur la consommation de saucisses en Algérie, même si le comportement de consommation de produits à base de viande a changé de façon remarquable au cours des dernières années en conséquence directe de l'économie de marché et la recherche de produits de qualité ainsi que d'autres caractéristiques de crédibilité. En mettant l'accent sur la Merguez, davantage d'informations sont nécessaires pour étudier l'importance de ce produit carné dans la société Algérienne et pour enquêter sur les modes de consommation des saucisses, en tentant d'estimer l'impact d'une éventuelle contamination des saucisses sur la santé des consommateurs Algériens, et de déterminer l'ampleur du problème et les différents facteurs de risque liés à la consommation de saucisses.

Au meilleur de nos connaissances, le présent article est la première étude sur les saucisses en Algérie; aussi bien pour la partie bactériologique que l'enquête auprès des consommateurs. Dès lors, les objectifs de notre étude épidémiologique transversale sont les suivants: (i) Estimer la prévalence et la distribution de la contamination par *S. aureus* dans différents départements (Daira) d'Algérie, (ii) enquêter sur l'évaluation de la qualité et la sensibilité antimicrobienne des isolats de *S. aureus* dans les saucisses artisanales (Merguez), destinés à la consommation dans dix Daira d'Alger, Algérie, et (iii) établir la première enquête épidémiologique Algérienne sur les consommateurs de saucisses, une enquête visant à identifier les habitudes de consommation de saucisses et d'investiguer sur les divers facteurs de risque influençant la survenue de toxi-infections alimentaires chez les consommateurs de saucisses. Nos résultats aideront les autorités à établir des stratégies de gestion des risques, à prévenir les épidémies d'origine alimentaire et à éviter la propagation d'agents pathogènes d'origine alimentaire (par exemple, *S. aureus*) tout au long de la chaîne alimentaire, ce qui comblera davantage les déficits de données à cet égard.

Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning

Amina Hachemi¹, Safia Zenia², Mohamed Fatih Denia³, Meryem Guessoum², Mohamed Mehdi Hachemi⁴ and Khatima Ait-Oudhia¹

1. Laboratory of Food Hygiene and Quality Insurance System (HASAQ), Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria; 2. Research Laboratory Management of Local Animal Resources (GRAAL), Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria; 3. Laboratory of Medical Biology, Beraki Road, BP 71, El Harrach, Algiers, Algeria; 4. Municipal Office of Environment, Algiers 16000, Algeria.

Corresponding author: Amina Hachemi, e-mail: hachemi.amina5@hotmail.fr

Co-authors: SZ: safia_zenia@yahoo.fr, MFD: denia_mf@yahoo.fr, MG: myriam.guessoum@gmail.com, MMH: hachemi.med.mehdi89@hotmail.com, KA: khatima.aitoudhia@gmail.com

Received: 26-02-2019, **Accepted:** 01-07-2019, **Published online:** 15-08-2019

doi: 10.14202/vetworld.2019.1240-1250 **How to cite this article:** Hachemi A, Zenia S, Denia MF, Guessoum M, Hachemi MM, Ait-Oudhia K (2019) Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning, *Veterinary World*, 12(8): 1240-1250.

Abstract

Aim: The first aim was to assess the quality and determine the prevalence and antibiotic susceptibility of *Staphylococcus aureus* contamination of raw sausage sold in ten municipalities in the Northeast of Algeria. Second, a consumer sausage purchasing survey was designed to investigate potential risk factors that have a significant association with the occurrence of foodborne poisoning among sausage consumers' behavior and its relationship with independent variables.

Materials and Methods: A total of 230 butcheries from ten departments (Daira) of Algiers with more than 40 municipalities were included randomly in these studies to collect raw sausage samples and to distribute 700 structured questionnaires to meat consumers. Our two studies were conducted at the same time, between June 2016 and April 2018. Sausage samples were taken once per butchery to estimate the prevalence of *S. aureus* contamination and therefore deduct the quality assessment of raw sausage (Merguez) sold in Algiers, Algeria. All isolated strains were tested for their antimicrobial resistance. Furthermore, questionnaires were distributed and used to collect information on various aspects of sausage consumption and foodborne disease. The data collected were analyzed with different statistical approaches, such as the Chi-square test and the odds ratio (OR) univariable logistic model. All the risk factors were analyzed by studying their association with the occurrence of consumers who claimed to have food poisoning after consuming sausage.

Results: The overall prevalence of *S. aureus* contamination from sausages was 25.22% (n=58/230). Over 83.33% of strains showed resistance to at least one of the antibiotics tested. The most important was for tetracycline (58%) followed by fosfomycin (33%), penicillin G (25%), and oxacillin (36%). Moreover, the multiple antibiotic resistance (MAR) index include 20 profiles with MAR >0.2. Out of the 440 meat consumers, 22.16% revealed having food poisoning after sausage consumption. The risk factors recorded were: Consumption outside of home (24.30%, OR=1.769, p=0.040), during the summer season (24.30%, OR=1.159) and during lunch (26.50%, OR=1.421).

Conclusion: Our study highlights a high prevalence of *S. aureus* contamination in Merguez, especially in some departments of Algiers, and the high multidrug resistance of *S. aureus* isolates against tetracycline and oxacillin; thus, *S. aureus* contamination in sausage is considered a potential risk to public health. Therefore, to reduce and prevent the spread of resistant strains, robust management and monitoring of antibiotic use should be established. Therefore, it is necessary to improve the sanitation conditions and education regarding personal hygiene and change certain consumption habits of Algerian consumers to ensure food safety. Finally, it can be concluded that the application of the HACCP system is essential either in butcheries producing sausage and/or slaughterhouses. From this perspective, studies might be performed to characterize *Staphylococcus* spp. and *S. aureus* to investigate their virulence factors.

Keywords: consumers, quality assessment, risk factors, sausages, *Staphylococcus aureus*.

Copyright: Hachemi, et al. Open Access. This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (<http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/>) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Introduction

Staphylococcus is a genus composed of two groups: Coagulase positive and negative [1]. Of the coagulase-positive Staphylococci group, *Staphylococcus aureus* has been reported as the third most common cause of foodborne diseases around the world [2]. In 2018, the Centers for Disease Control

in the United States estimated that 48 million people each year get sick from a foodborne illness, 128,000 are hospitalized, and 3000 dies [3]. This situation is all the more serious in emerging nations, with devastating economic consequences [4]. According to the Algerian Ministry of Health, more than 15,233 cases of food poisoning were recorded between 2016 and 2017, with 16 deaths, of which *S. aureus* was the second leading cause [5]. Furthermore, *S. aureus* has been identified by the World Health Organization as an international concern due to its multidrug resistance [6]. In addition, *S. aureus* can cause mastitis in cows and small ruminants, resulting in the animals being asymptomatic carriers or suffering from respiratory, gastrointestinal, or skin problems [7]. Moreover, the presence of antibiotic-resistant strains has become an emerging zoonotic issue of public health concern [8] and important vehicles for transferring antimicrobial resistance factors to the intestinal tract of consumers [9]. Despite extensive research efforts, many people still suffer from Staphylococcal infections [10]. *S. aureus* is a common pathogen associated with community and nosocomial acquired diseases [11], and a possible treatment remains complicated [12], especially with the appearance of methicillin resistance found in several species of meat-producing animals, including pigs, chickens, and cattle [13], increasing the concern about human exposure to *S. aureus* through the food chain.

The commodities we are interested in are specifically spicy lamb or beef-based raw sausage, a North African specialty called “Merguez.” Merguez is regarded as the most popular variety of meat products widely consumed in Algeria. Due to its nutritional composition, sausage constitutes a rich medium that is very favorable to pathogen growth; most pathogens are inhibited, except *S. aureus* which is able to grow under a wide range of environmental conditions [14]. Studies suggest that generally the number of *S. aureus* required to produce an outbreak of Staphylococcal food poisoning is approximately 10^5 - 10^6 CFU/g or mL [15], and it is associated with nausea, vomiting, diarrhea, and abdominal pain within a few hours after ingestion [16]. As a consequence, research has been conducted to investigate the presence of *S. aureus* in different kind of meats, as described previously [17-27].

Despite the fact that Merguez is a typical product of North Africa, data concerning *S. aureus* detection in sausage are limited to the Moroccan study described by Ed-Dra *et al.* [14] and a handful of studies conducted in Spain [28], Italy [29], Turkey [30], the USA [31], and Saudi Arabia [24]. There is an increased risk for foodborne diseases caused by sausage, but unfortunately, there have not been studies on sausage consumption in Algeria, even though meat product consumption behavior has changed remarkably during the past few years as a direct consequence of the market economy and the search for more quality products and other credence characteristics. Focusing on Merguez, more information is necessary to investigate the importance

of this meat product in Algerian society and to report a survey of sausage consumption patterns, attempting to estimate the impact of a possible sausage contamination on the health of Algerian consumers, and to determine the magnitude of the problem and the different risk factors related to sausage consumption.

To the best of our knowledge, the present paper is the first study on sausage in Algeria; as well as on the bacteriological portion and consumer survey. Therefore, the aims of our epidemiological cross-sectional study are the following: (i) To estimate the prevalence and distribution of *S. aureus* contamination in different departments (Daira) of Algeria, (ii) to investigate the quality assessment and the antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates in artisanal sausage (Merguez), destined for food consumption in ten Daira of Algiers, Algeria, and (iii) to establish the first Algerian epidemiological survey on sausages consumers, a survey seeking to identify sausage consumption habits and to investigate the various risk factors influencing the occurrence of foodborne poisoning among sausage consumers. Our findings will help authorities establish risk management strategies, prevent foodborne outbreaks, and avoid the spread of foodborne pathogens (e.g., *S. aureus*) throughout the food chain further filling in data deficits in this regard.

Materials and Methods

Ethical approval

Sausages were taken from butcheries, which did not need contact with animals. The present study did not involve any invasive procedure, and hence, ethical approval is not required.

Informed consent

Informed consent was obtained from each participants.

Study area and design of sampling sites

Between June 2016 and April 2018, sausage samples of 230 butcheries were randomly collected from ten (out of 13) departments (Daira) with 43 municipalities located in urban and peri-urban areas of Algiers, the capital of Algeria (Sidi M'hamed, Bir Mourad Rais, Bab El Oued, El Harrach, Hussein Dey, Dar El Beida, Bouzareah, Cheraga, Zeralda, Birtouta, Daira, Beraki, and Rouiba) (Figure-1). The samples at the same butchery were taken once but from different lots, with an average of 23 samples per department (Daira). Merguez samples were identified using the standard ISO 6888-1 [32] and included for further investigation. Samples were obtained aseptically from display cases, and approximately 500 g of the sausage was transported to the laboratory at 4°C in ≤ 2 h. In no case was the sample frozen. Direct contact with the sample was carried out under strict aseptic conditions [33].

S. aureus isolation and identification

Microbiological isolation and identification were performed according to techniques recommended by the International Organization for Standardization ISO

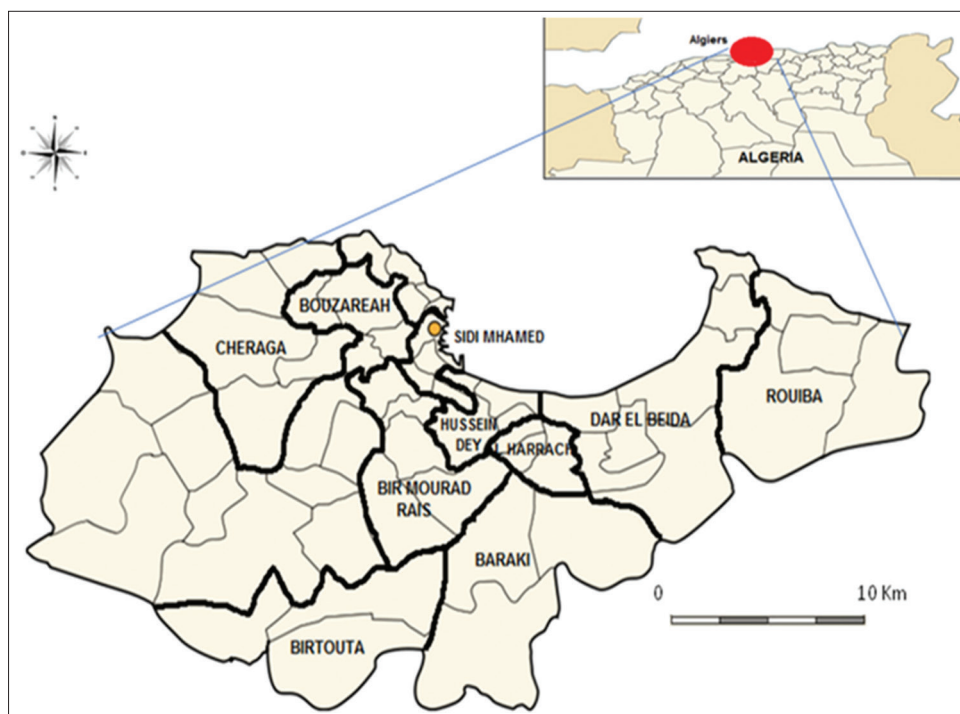


Figure-1: Geographical distribution of the study areas consist of the sampling sites in ten departments (More than 40 municipalities) of Algiers, capital of Algeria (230 butchers sampling).

Source: Personalized map (Based on geographic delineation maps provided by Algiers department).

6888-1:1999 Standard, using Baird-Parker agar with egg yolk-potassium tellurite emulsion plates (BP, Pasteur Institute of Algiers) incubated at 37°C for 24-48 h [22]. Five presumptive *S. aureus*-typical colonies (Typical colonies: Black, surrounded by a clear zone) were sub-cultured and identified by conventional methods (Gram staining, catalase test, mannitol fermentation, and the ability to coagulate rabbit plasma) [34,35] followed by a latex agglutination test by Pastorex Staph Plus assay (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) [12]. The isolates that responded positively to the mentioned tests were considered *S. aureus* strains.

Quality assessment

Sausage quality was evaluated and interpreted with Regulation (EC) No. 2073/2005 on microbiological criteria for foodstuffs [36] and according to the Algerian Food Codex for assessing the microbiological safety of the *S. aureus* in the artisanal sausage [37]. Poor Merguez quality is attributed as “unsatisfactory quality” with contamination levels exceeding 3.70 log CFU/g. In contrast, good Merguez quality is attributed as Merguez belonging to “satisfactory quality” with *S. aureus* contamination levels ≤ 2.70 log CFU/g and/or “acceptable quality” with *S. aureus* contamination levels between 2.70 and 3.70 log CFU/g.

Antimicrobial susceptibility testing

Antimicrobial susceptibility was performed for all the confirmed strains according to the standard disk diffusion method on Müller-Hinton agar against the following panel of 16 antimicrobial agents (charge in µg/disk) (Sirscan, France): Penicillin G (1UI), cefoxitin (30), oxacillin (1), vancomycin (30), teicoplanin (30),

erythromycin (15), gentamicin (10), ciprofloxacin (5), fosfomycin (200), rifampicin (30), ofloxacin (5), chloramphenicol (30), tetracycline (30), levofloxacin (5), kanamycin (30) and trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75). Minimum inhibitory concentrations were determined using the E-test method (bioMérieux) [35]. Strains were classified as resistant in accordance with EUCAST [38] for all antibiotics tested, except for oxacillin, which was evaluated according to EUCAST [39]. The multiple antibiotic resistance (MAR) index was calculated.

Study population

Questionnaire survey

A cross-sectional epidemiological survey was carried out from June to November 2018 and included a total of 700 structured questionnaires distributed to Algerian meat consumers from the same butcheries of the municipalities described above (n=230). The questionnaire contained close-ended questions used to collect information on various aspects of sausage consumption and foodborne disease. The questionnaire consisted of structured questions divided into three categories. The first category comprised questions regarding the demographic characteristics of the respondents (age, gender, residence, having children, and purchase location). The second category involved information concerning consumption habits (place, season, and time of sausage consumption) and the third includes storage conditions (length of transport, refrigeration, and freezing of sausages) and their relationship with the occurrence of food poisoning in the respondents following sausage consumption. The

questionnaire was pretested, modified, and refined before starting.

Statistical analysis

The data collected were analyzed in IBM SPSS statistical software version 20.0 (IBM, USA) for Windows with different statistical approaches. Descriptive statistics by the Chi-square test and odds ratio (OR) univariable logistic model were performed to analyze the potential risk factors and their relation to the independent variables. All analyses were carried out at a 95% confidence level with the significance level fixed at $p < 0.05$.

Results

S. aureus prevalence

Our study was carried out to estimate the prevalence of *S. aureus* among sausages collected from 230 butcheries in 10 departments (Daira) in Algiers. Fifty-eight (230) samples were contaminated with *S. aureus*. Samples taken from the ten departments were analyzed by the Chi-square homogeneity test with $p = 0.025$ and determined to be homogeneous. The overall prevalence of 25.22% (IC [19.60-30.80]) was obtained, and the highest prevalence was found in Beraki (68%), Cheraga (44%), and El Harrach (43.75%). The least prevalent samples were recorded from Sidi M'hamed (4.76%), Dar El Beida (5%), and Rouiba (8.70%), with significant differences between the ten Daira, $p < 0.05$ (Table-1). Furthermore, based on quantitative analysis, the overall mean of *S. aureus* contamination was 5.26 ± 0.45 log CFU/g, with IC values between 5.202 and 5.318. The minimum contamination amount in all departments was observed in the Dar El Beida sample, with 4.38 ± 0.00 log CFU/g, while the maximum was recorded in the El Harrach sample, at 6.06 ± 0.2 log CFU/g, as represented in Figure-2.

Quality assessment of sausages

Concerning the quality assessment of the sausages analyzed, 24.78% ($n = 57/230$) of the samples represented poor sausage quality (unsatisfactory quality) due to *S. aureus* contamination with IC (19.20-30.60), as presented in Table-1. The worst qualities were recorded in Beraki, Cheraga, and El Harrach with (68%; $n = 17/25$), (52%; $n = 13/25$), and (43.75%; $n = 07/16$), respectively. Dar El Beida (5%; $n = 01/20$), Sidi M'hamed (4.76%; $n = 01/21$), and Rouiba (8.70%; $n = 02/23$) were the departments with the best sausage quality. The analysis showed a significant difference between Daira ($p < 0.05$).

Antimicrobial susceptibility profile

The resistance patterns of all the *S. aureus* isolates against the tested antibiotics are shown in Table-2. As reported, the results of the antimicrobial susceptibility testing demonstrate *S. aureus* resistance to a panel of 16 antibiotics belonging to different classes, including penicillin G (25%, $n = 21/84$), oxacillin (36%, $n = 30/84$), cefoxitin (05%, $n = 04/84$),

Table-1: Prevalence, contamination level, and quality assessment of *S. aureus* isolated from sausage.

Cities of Algiers	Analyzes butcheries ^a	<i>S. aureus</i> contamination in raw sausage				Quality assessment ^a	
		Positives butcheries ^d	Prevalence ^{ab} (%)	Contamination level ^a (Log CFU/g)		Mean $\pm$ SD	Poor quality ^c Nb. (%)
				Minimum	Maximum		
Beraki	25	17	68.00	4.30	6.19	5.34 $\pm$ 0.6	17 (86.00)
Bir Mourad Rais	25	6	24.00	3.37	5.41	4.62 $\pm$ 0.7	5* (20.00)
Birtouta	25	3	12.00	5.26	5.75	5.48 $\pm$ 0.2	3 (12.00)
Bouzareah	25	5	20.00	5.22	5.81	5.62 $\pm$ 0.2	5 (20.00)
Cheraga	25	13	52.00	4.04	6.08	5.15 $\pm$ 0.8	13 (52.00)
Dar El Beida	20	1	5.00	4.38	4.38	4.38 $\pm$ 0.0	1 (5.00)
El Harrach	16	7	43.75	5.72	6.24	6.06 $\pm$ 0.2	7 (43.75)
Hussein Dey	25	3	12.00	4.30	5.82	4.82 $\pm$ 0.9	3 (12.00)
Rouiba	23	2	8.70	5.29	6.55	5.91 $\pm$ 0.9	2 (8.70)
Sidi M'hamed	21	1	4.76	5.25	5.25	5.25 $\pm$ 0.0	1 (4.76)
Total	230	58	25.22	4.71	5.75	5.26 $\pm$ 0.45	57/230 (24.78)

^aDistribution per city; ^bPrevalence of contamination; ^cNonsatisfaction quality; ^dButcherries where *S. aureus* was isolated; *The case of acceptable quality has been removed.
S. aureus=*Staphylococcus aureus*

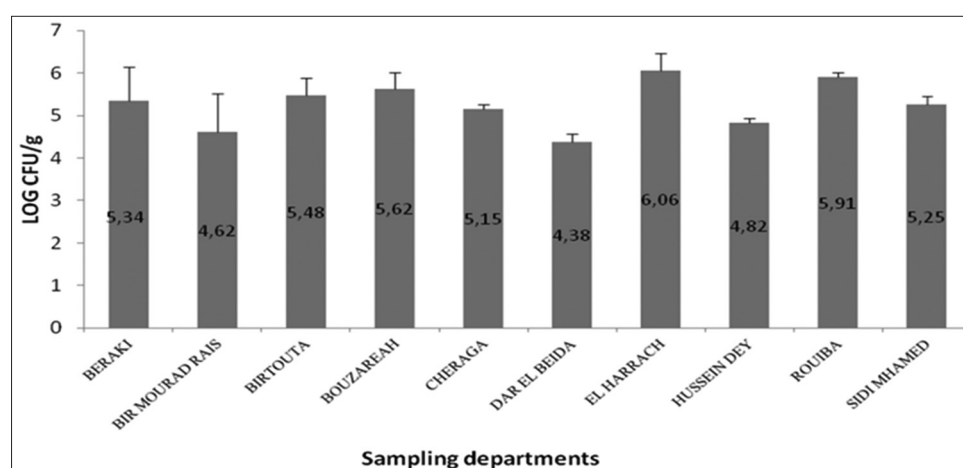


Figure-2: The average values of *Staphylococcus aureus* counted in sausages according to the sampling departments.

Table-2: Antibiotic resistance of *S. aureus* isolated from sausage (n=84).

Antibiotic class	Antibiotics	<i>S. aureus</i> , n (%)
B-Lactams	P	21 (25)
	OXA	30 (36)
	FOX	4 (5)
Macrolides	E	19 (23)
Quinolones	CIP	11 (13)
	OFX	16 (19)
	LEV	12 (14)
RAM	RAM	11 (13)
Glycopeptides	VA	0
	TEC	0
Aminoglycosides	CN	2 (2)
	KMN	0
Phenicoles	C	8 (10)
Sulfonamides	SXT	3 (04)
Others	TE	49 (58)
	FOS	28 (33)
ORT		21 (25)
TRT		20 (24)
ThRT		28 (33)

ORT=Resistance to one antibiotic class, TRT=Resistance to two antibiotic class, ThRT=Resistance to three antibiotic class, *S. aureus*=*Staphylococcus aureus*, P=Penicillin G, OXA=Oxacillin, FOX=Cefoxitin, E=Erythromycin, CIP=Ciprofloxacin, OFX=Ofloxacin, LEV=Levofloxacin, RAM=Rifampicin, VA=Vancomycin, TEC=Teicoplanin, CN=Gentamycin, KMN=Kanamycin, C=Chloramphenicol, SXT=Sulfamethoxazole/trimethoprim, TE=Tetracycline, FOS=Fosfomycin

erythromycin (23%, n=19/84), ciprofloxacin (13%, n=11/84), ofloxacin (19%, n=16/84), rifampicin (13%, n=11/84), gentamicin (2%, n=02/84), chloramphenicol (10%, n=8/84), trimethoprim/sulfamethoxazole (4%, n=3/84), tetracycline (58%, n=49/84), levofloxacin (14%, n=12/84), and fosfomycin (33%, n=28/84). No resistance was recorded for vancomycin, teicoplanin, or kanamycin. The results show *S. aureus* strains highly resistant to tetracycline, which is the most common antibiotic resistance profile from all department samples, followed by oxacillin and fosfomycin. In contrast, very low resistance was found for gentamicin and trimethoprim/sulfamethoxazole. Furthermore, 15 isolates (17.85%) were susceptible to

all tested drugs. A total of 21 *S. aureus* isolates were resistant to only one antimicrobial (25%); 20 (24%) were resistant to two antimicrobials; and 28 (33%) were resistant to three or more antibiotics most commonly used in veterinary medicine. Over 70 (83.33%) of the isolated *S. aureus* strains showed resistance to at least one of the antibiotics tested. Moreover, the analysis of our results showed that the MAR index varies between 0 and 0.63 with 39 different phenotypic profiles (Table-3), including 20 profiles (23 *S. aureus* isolates) with MAR >0.2. Out of the 16 oxacillin-resistant isolates (n=16/84; 19.04%), four (n=4/84; 4.80%) showed additional resistance to cefoxitin and penicillin by antimicrobial susceptibility and were thus identified as methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains as described [40]. All MRSA isolates showed resistance to tetracycline and 1, 3, or 5 other antibiotics.

Risk factor analysis

Our findings demonstrated the highest consumption frequency of sausage (n=379/440, 86.14%) among meat consumers who responded to our questionnaire (440/700). Out of 379 sausage consumers, 84 (22.16%) claimed to have food poisoning after consuming sausage. Our analysis identified three categories that underline 11 risk factors among the 14 related to sausage consumer habits with an OR >1. The distribution of the risk factors was as follows: Demographic characteristics, consumption habits, and storage conditions. The OR analysis of the assumed risk factors is summarized in Table-4. However, only two risk factors were found to be statistically significant, with p=0.04 and p=0.025 for consumers eating outside of the house and in the Birtouta department, respectively.

Regarding the demographic characteristics, our results showed five (11) risk factors and found that respondents between the ages of 18 and 40 years (22.60% OR=1.194; [0.571-2.499]), males (25.70%; OR=1.321; [0.785-2.224]), consumers living with their families (23.50%; OR=1.624; [0.810-3.257]) and consumers that had children (22.90%; OR=1.164; [0.679-1.998]) were more affected and more likely to

Table-3: Resistance profile of *S. aureus* isolated.

Number of antibiotics	Number of isolates	Resistance profile of isolate <i>S. aureus</i>	MAR index
0	15	-	0.00
1	4	OXA	0.06
	9	TE	0.06
	3	P	0.06
	3	FOS	0.06
	2	RAM	0.06
2	1	TE-FF	0.13
	1	CIP-C	0.13
	2	P-TE	0.13
	1	E-FOS	0.13
	1	OXA-E	0.13
	1	OXA-FOS	0.13
	1	OXA-OFX	0.13
	1	OXA-RAM	0.13
	1	OXA-TE	0.13
	7	TE-FOS	0.13
3	3	OXA-TE-FOS	0.19
	3	E-TE-FOS	0.19
	1	P-OXA-C	0.19
	1	P-OXA-TE	0.19
	1	OXA-TE-FOS	0.19
4	1	OXA-E-RAM-TE	0.25
	1	P-E-TE-C	0.25
	1	P-OXA-CN-FOS	0.25
	1	OXA-OFX-RAM-TE	0.25
5	1	P-OXA-E-RAM-TE	0.31
	1	P-OXA-OFX-TE-FOS	0.31
	1	P-OXA-FOX-TE-FOS	0.31
	1	P-OXA-E-TE-FOS	0.31
	1	P-CIP-OFX-TE-LEV	0.31
	1	E-CIP-OFX-TE-LEV	0.31
	1	OXA-E-OFX-TE-LEV	0.31
6	2	P-FOX-CIP-OFX-TE-LEV	0.38
	1	OXA-E-CIP-OFX-TE-LEV	0.38
	1	OXA-E-OFX-RAM-TE-FOS	0.38
	1	P-OXA-E-RAM-TE-C	0.38
	1	E-CIP-OFX-TE-FOS-LEV	0.38
7	1	P-E-CIP-OFX-RAM-TE-LEV	0.44
8	1	OXA-E-CIP-OFX-TE-LEV-C-SXT	0.50
9	1	P-OXA-FOX-OFX-CN-TE-FOS-LEV-C	0.56
10	2	P-OXA-E-CIP-OFX-RAM-TE-LEV-C-SXT	0.63

MAR=Multiple antibiotic resistance, OXA=Oxacillin, TE=Tetracycline, E=Erythromycin, P=Penicillin G, FOS=Fosfomycin, RAM=Rifampicin, CIP=Ciprofloxacin, OFX=Ofloxacin, CN=Gentamycin, LEV=Levofloxacin, FOX=Cefoxitin, SXT=Sulfamethoxazole/trimethoprim, C=Chloramphenicol

get foodborne diseases after sausage consumption. Thus, the departments Birtouta (35.70%; OR=2.158; $p=0.025$), Bouzareah (27.90%; OR=1.419), Dar El Beida (25.60%; OR=1.240), El Harrach (26.20%; OR=1.283), and Hussein Dey (28.60%; OR=1.436) had more sick consumers.

Similarly, for the consumption habits, consumers who ate sausages outside of the house ($p=0.040$; 30.50%), during the summer season (24.30%) or at lunch (26.50%) were found to be risk factors with OR=1.769; (1.021-3.066), OR=1.159; (0.630-2.131); and OR=1.421; (0.854-2.366), respectively. In addition, length of sausage transport (exceeding 2 h) (25%) and sausage stored at room temperature (23.10%; $n=61/264$); or frozen (24%) were the three risk factors found for the storage conditions category, with; OR=1.189 (0.513-2.752), OR=1.202 (0.701-2.061), and OR=1.292 (0.784-2.130), respectively.

Discussion

Bacteriological study

Meat and meat products are the most common foodstuffs in the world, exposing consumers to the risks of *S. aureus* outbreaks with serious economic consequences [15,22]. Although many researchers have previously reported the presence of *S. aureus* in various foods, there is a lack of scientific publications about sausages in Algeria and around the world. To the best of our knowledge, our study is the first epidemiological survey about artisanal sausage (Merguez) in Algeria.

In the present investigation, 25.22% of the evaluated sausages were affected by *S. aureus*. Our results were supported by a sausage study in Saudi Arabia (with 30%) [24] but were lower than that found in Morocco (50%) [14], and the United States of America (42.30%) [13], and higher than that found in Italy (11.77%) [29]. Furthermore, our findings agreed

Table-4: Risk factors analysis.

Risk factors	Number of sick consumers (%)	p-value	OR	CI
1. Demographic characteristics				
Age				
18-40 years	74/328 (22.60)	0.637	1.194	0.571-2.499
41-75 years	10/51 (19.60)			
Gender				
Males	28/109 (25.70)	0.294	1.321	0.785-2.224
Females	56/270 (20.70)			
Habitat				
With family	73/310 (23.50)	0.169	1.624	0.810-3.257
Alone	11/69 (15.90)			
Having children				
Without children	61/266 (22.90)	0.580	1.164	0.679-1.998
With children	23/113 (20.40)			
Localities				
Birtouta	15/42 (35.70)	0.025	2.158	1.088-4.278
Bouzareah	12/43 (27.90)	0.336	1.419	0.694-2.903
Dar El beida	10/39 (25.60)	0.581	1.240	0.578-2.660
El Harrach	11/42 (26.20)	0.505	1.283	0.615-2.676
Hussein Dey	06/21 (28.60)	0.467	1.436	0.539-3.824
2. Consumption habits				
Consumption place				
Outside of home	25/57 (30.50)	0.040	1.769	1.021-3.066
At home	59/238 (19.90)			
Consumption period				
Summer season	17/70 (24.30)	0.636	1.159	0.630-2.131
Out of summer season	67/309 (21.70)			
Consumption moment				
At lunch	31/117 (26.50)	0.175	1.421	0.854-2.366
At dinner	53/262 (20.20)			
3. Storage conditions				
Consumption <2h				
Non	8/24 (25.00)	0.686	1.189	0.513-2.752
Oui	76/271 (21.90)			
Sausages freezing				
Non	61/264 (23.10)	0.503	1.202	0.701-2.061
Oui	23/115 (20.00)			
Keep in the fridge				
Oui	53/168 (24.00)	0.313	1.292	0.784-2.130
Non	31/127 (19.60)			

OR=Odds ratio, CI=Confidence interval

with many meat reports in Algeria (29.40%) [20], Greece (24.50%) [28], Italy (29.41%) [41], Iran (26.31%) [21], and Egypt (23.10%) [42].

For dairy product studies, in Algeria, similar results were reported, as described by [20,43,44]. In contrast, the prevalence obtained was higher than that found in Egypt (12%) [45], (16.60%) [23], Nigeria (9.15%) [46], China (1.8%) [22], Greece (18%) [27], Spain (7%) [26], and Italy (9.79%) [47] (11.77%) [29], with the highest prevalence registered in Georgia [12] and Turkey [48] with (63%) and (42.50%), respectively.

In our study, the overall mean of *S. aureus* contamination was 5.26 ± 0.45 log CFU/g, with the highest contamination level observed in El Harrach (6.06 ± 0.20 log CFU/g), which was characterized by the worst sausage quality. Our results are higher than those described by Ed-Dra *et al.* [14] and Cohen *et al.* [4], with 3.82 ± 0.84 log CFU/g and 2.1 ± 0.41 log CFU/g, respectively. Our results showed that the

S. aureus count was superior to the maximum tolerable microbiological limit for raw sausages according to the microbiological criteria regarding sausage [37], especially because a contamination level that exceeds 10^5 *S. aureus* g⁻¹ (5.70 log CFU/g) is considered capable of producing a Staphylococcal food poisoning outbreak [49], as was the case for sausage samples from El Harrach, Rouiba, and Bouzareah.

A wide range of *S. aureus* prevalence and contamination levels in sausage were found in this study, indicating the variation in *S. aureus* among the ten (10) departments of Algiers that were studied, with the highest prevalence found in Beraki (68%), Cheraga (44%), and El Harrach (43.75%), which were also the same cities with the worst sausage quality. The different prevalence might be attributed to the geographical location because El Harrach and Beraki represent popular regions with high agglomeration areas and the meat supply departments for the entire capital having

the two largest slaughterhouses of cattle and sheep. Nevertheless, the source of *S. aureus* contamination could be multifactorial and differ greatly between countries and even between cities in the same country, especially in the underdeveloped world.

The presence of *S. aureus* in artisanal sausage (Merguez) may indicate contamination with multiple origins. As hypotheses, we can advance possible contamination of animal origin, a failure in hygiene or recontamination due to insufficient hygienic and sanitary practices [16,50,51] and to the increased number of processes the sausage has been subjected to [27] and could be assigned to the quality of manufacturing practices [34]. Several conditions attest the poor hygienic quality of raw sausage upstream of poor meat quality, possibly due to carcass contamination with intestinal contents during slaughtering and/or the influence of pre-slaughter stress, season, animal density, duration of transport [52], and slaughter-house sanitation [53]. Thus, uncontrolled processing, storage, handling, poor personal hygiene, and sanitary conditions in food industries [34,54] are all factors that can contribute to poor meat quality.

The present study showed that 83.33% of *S. aureus* exhibited resistance to at least one of the antibiotics tested. Moreover, 33% were resistant to three or more antibiotics (multidrug-resistant). Wang *et al.* [22] and Chaalal *et al.* [20] reported similar percentages, 39.10% and 33.30%, respectively; however, high levels of multidrug-resistant isolates were registered in Greece (59.30%) [27] and Morocco (69.84%) [14]. In contrast, a lower rate was found in beef products in the USA [13,25] and dairy milk in Algeria [43].

Our antimicrobial analysis showed that the highest resistance among all antibiotics tested was against tetracycline (58%), followed by oxacillin (36%), fosfomicin (33%), penicillin (25%), and erythromycin (23%). The resistance to tetracycline remains the most common, with a high prevalence, which is in concord with several earlier reports from sausage [14] and different meat products [16,22,23,25,43,55,56]. In contrast, Aydin *et al.* [30] found 8.33% in Turkey sausage; low rates were also recorded in meat and meat products in Italy (25%) [41], and Turkey (22.20%) [48], and Algerian cow milk [43].

For the oxacillin-resistant strain, our findings were similar to those registered in Italy [41] and Algeria [20]. However, sausage studies established by Ed-Dra *et al.* [14] and Aydin *et al.* [30] registered no oxacillin-resistant strains, similar to a result from meat studies by Arslan and Ozdemir [48]. Other researchers have found very low resistance to other antibiotics, such as Wang *et al.* [22], Ge *et al.* [25], and Pu *et al.* [55]. Despite the 25% of strains resistant to penicillin in our study, which is nearly similar to the rate found in sausages in Morocco [14] and in Italian meat [41], earlier studies exhibited a high resistance approaching 90% [22,23,25,30,48,56].

For erythromycin resistance, our results were similar to many studies [20,23,41,55]. Notably, Sergelidis *et al.* [27] and Wang *et al.* [22] found highly resistant strains. On the other hand, low resistance rates of ofloxacin (19%), levomycin (14%), rifampicin (11%), gentamycin (2%), SXT (4%), and cefoxitin (5%) were recorded in our study, which was similar to several meat product studies [22,23,25,27,30,43,50,57] and even Algerian raw milk [43].

In the case of chloramphenicol (10%), resistance is exhibited at more or less lower rates in the different studies, even though, at least for Algeria, treatment by chloramphenicol is banned [57]. Therefore, finding resistance rates may lead to outlawed use. Fortunately, no resistance to vancomycin, teicomycin, or kanamycin was recorded, similar to rates advanced by several researchers, except for kanamycin, where most research showed the beginning of resistance at 6.35% and 8.33% in sausages [14,30]; however, 30% and 32.6% were registered in Egypt [23] and Algeria [20], respectively. In contrast, among the 84 *S. aureus* strains, MAR index analysis demonstrated the presence of 39 different phenotypic profiles ranging from 0 to 0.63, with 20 *S. aureus* profiles belonging to MAR >0.2.

In the present investigation, the results found more resistance against tetracycline, oxacillin, and penicillin and common resistance among *S. aureus* from meat products [12,40] to erythromycin compared to the other antibiotics because of their extensive use as antimicrobial agents against staphylococcal infections, indicating a correlation between antibiotic use and antimicrobial resistance. Tetracycline is a broad-spectrum antimicrobial agent [40] and is used in intensive livestock production, often anarchically, for therapeutic [10,58] and prophylactic purposes or as a growth promoter [59]. However, the irrational use of antibiotics as growth-enhancer drugs has been banned in various countries [60]. Furthermore, the high propagation of antimicrobial resistance in *S. aureus* could be explained by the inappropriate prescription practices of antibiotics used in the animal world [60].

Epidemiological survey

Foodborne infections are major health concerns in developing countries, including Algeria. Information on consumer habits and their susceptibility to cause outbreaks helps researchers and authorities develop appropriate strategies in terms of prevention, control, and monitoring. The findings of our survey demonstrate the highest consumption frequency of sausage (n=379, 86.14%) among meat consumers, and 84 of the 379 surveyed (22.16%) revealed having had food poisoning after sausage consumption, being more affected and thus more likely to get foodborne diseases after sausage consumption.

For the demographic characteristic risk factors, other studies [61,62] have found similar results in meat consumption among adults and single people; however, males were more likely to be consumers, which

is associated with masculinity and power according to Rozin *et al.* [63]. A possible explanation for the differences between males and females may be attributed to the sampling method related to the mode of purchasing in Algeria, dictating that most of the time, the Algerian housewife buys the needs for the home since the man is often at work and returns late. For the purchase locations, the varied places could be a risk factor. Based on our previous study, either the place of purchase and/or the place of consumption could be the cause of food-borne illness. In addition, participants eating during the summer season, outside of the house and at lunch were the three risk factors found in our survey with regard to consumption habits. Similar results were reported by Wu *et al.* [64] with 65.70% and by Kadariya *et al.* [15] with 44% of outbreaks occurring outside of the home. This may be due either to the fact that most Algerians are at work during the day and have no choice other than eating out, which is consistent with lunchtime, and the lack of awareness consumers has regarding insufficient hygienic and sanitary conditions [15,52,65], since handling during preparation is considered the main source of food contamination [16].

Furthermore, our investigation revealed three other risk factors interpreted as poor storage habits including the length of transport (exceeding 2 h after purchase); the sausage storage methods at home, before and during consumption; and the fact that consumers freeze the sausage. Similar results were reported by various studies [15,66,67]. According to Kadariya *et al.* [15], several errors in food preparation are the most common contributing factor (93%) in foodborne diseases, as well as storage conditions (39%) and prolonged exposure of foods at ambient temperature (58%), supporting the notion that there are limited health consciousness and poor knowledge of good hygienic practices among Algerian consumers. Therefore, consumers need to be aware that traditional sausages, widely consumed in Algeria, are potential risks and could cause foodborne diseases if handled inappropriately at home. Thus, more information about hygiene rules and preparation is necessary for the general population and, more urgently, for groups at risk [64].

Conclusion

Our comprehensive report highlights a high prevalence of *S. aureus* sausage contamination found in some departments of Algeria, high multidrug resistance identified in isolates, and amount of *S. aureus* that is above the limit established by law and at levels compatible with the production of enterotoxins, which revealed the potential risk of artisanal sausage to public health in Algeria. Therefore, to reduce resistant strains, monitoring antibiotics and developing new treatment strategies against staphylococcal infections should be established, especially those that are still widely used in Algeria for human therapy because of their low cost and availability. Furthermore, it is necessary to improve education regarding Algerian

sausage by changing certain consumption habits related to the risk factors found. Finally, it can be concluded that authority interventions should be designed to prevent *S. aureus* contamination during pre-slaughter, post-slaughter and at butchereries producing sausage, targeting adherence to either good hygiene practices and/or HACCP system. From this perspective, studies might be performed to characterize *Staphylococcus* spp. and *S. aureus* to investigate their virulence factors.

Authors' Contributions

AH conducted the studies, experimental procedures, and analysis. KA participated in the design of the studies. MMH and MG participated in sample collection. AH and MFD were responsible for antibiogram analysis. AH and SZ were carried out the statistical analysis and interpretation. The manuscript was drafted by AH and reviewed by AH, SZ, and KA. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

The authors would like to express their sincere thanks to Safaa Messalhi and Chahrazed Kada for help in sampling and microbiological analysis. Furthermore, we would like to express our appreciation and thanks to Tahar Hachemi for great help, and encouragement through this study. The authors did not receive financial assistance from any source.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

Publisher's Note

Veterinary World remains neutral with regard to jurisdictional claims in the published map and institutional affiliation.

References

- Götz F., Bannerman T., Schleifer KH. (2006) The Genera *Staphylococcus* and *Micrococcus*. In: Dworkin M., Falkow S., Rosenberg E., Schleifer KH., Stackebrandt E. editors. The Prokaryotes. Springer, New York, NY. 5-75.
- Alharbi, A., Ibrahim, A.S.S. and Al-Salamah, A.A. (2014) Prevalence of various enterotoxins among clinical *Staphylococcus aureus* strains isolated from food borne poisoning patients. *J. Pure Appl. Microbiol.*, 8(4): 3079-3088.
- Centers for Diseases Control and Prevention. (2018) Estimates of Foodborne Illness in the United States. Available from: <https://www.cdc.gov/foodborneburden/2011-foodborne-estimates.html>. Retrieved on 15-01-2019.
- Cohen, N., Ennaji, H., Hassar, M. and Karib, H. (2006) The bacterial quality of red meat and offal in Casablanca (Morocco). *Mol. Nutr. Food Res.*, 50(6): 557-562.
- Algerian Ministry of Health. (2017) National Statistics of Food Poisoning Cases, Ministerial Note. Algerian Ministry of Health, Lebanon.
- World Health Organization. (2017) Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. World Health Organization, Geneva. p7.
- Doyle, M.E., Hartmann, F.A. and Wong, A.C.L. (2012) Methicillin-resistant staphylococci: Implications for our

- food supply? *Anim. Health Res. Rev.*, 13(2): 157-180.
8. Jamali, H., Paydar, M., Radmehr, B., Ismail, S. and Dadrasnia, A. (2015) Prevalence and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from raw milk and dairy products. *Food Control*, 54(1): 383-388.
9. Beyene, T., Hayishe, H., Gizaw, F., Beyi, A.F., Abunna, F., Mammo, B., Ayana, D., Waktole, H. and Abdi, R.D. (2017) Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Res. Notes*, 10(1): 171.
10. Rong, D., Wu, Q., Xu, M., Zhang, J. and Yu, S. (2017) Prevalence, virulence genes, antimicrobial susceptibility, and genetic diversity of *Staphylococcus aureus* from retail aquatic products in China. *Front. Microbiol.*, 8(1): 714.
11. Gharsa, H., Dziri, R., Klibi, N., Chairat, S., Lozano, C., Torres, C., Bellaaj, R. and Slama, K.B. (2016) Environmental *Staphylococcus aureus* contamination in a Tunisian hospital. *J. Chemother.*, 28(6): 506-509.
12. Jackson, C.R., Davis, J.A. and Barrett, J.B. (2013) Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *J. Clin. Microbiol.*, 51(4): 1199-1207.
13. Thapaliya, D., Forshey, B.M., Kadariya, J., Quick, M.K., Farina, S., O'Brien, A., Nair, R., Nworie, A., Hanson, B., Kates, A., Wardyn, S. and Smith, T.C. (2017) Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food Microbiol.*, 65(1): 122-129.
14. Ed-Dra, A., Filali, F.R., Bouymajane, A., Benhallam, F., El Allaoui, A., Chaiba, A. and Giaratana, F. (2018) Antibiotic susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolated from sausages in Meknes, Morocco. *Vet. World*, 11(10): 1459-1465.
15. Kadariya, J., Smith, T.C. and Thapaliya, D. (2014) *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne disease: An ongoing challenge in public health a review. *Biomed. Res. Int.*, 2014(1): 827965.
16. Sergelidis, D. and Angelidis, A.S. (2017) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: A controversial food-borne pathogen a review. *Lett. Appl. Microbiol.*, 64(6): 409-418.
17. Velasco, V., Vergara, J.L., Bonilla, A.M., Munoz, J., Mallea, A., Vallejos, D., Aguiluz, M.Q., Campos, J. and Rojas-Garcia, P. (2018) Prevalence and characterization of *Staphylococcus aureus* strains in the pork chain supply in Chile. *Foodborne Pathog. Dis.*, 15(5): 262-268.
18. Kim, Y.B., Seo, K.W., Jeon, H.Y., Lim, S.K. and Lee, Y.J. (2018) Characteristics of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poult. Sci.*, 97(3): 962-969.
19. Jansen, W., Woudstra, S., Muller, A., Grabowski, N., Schoo, G., Gerulat, B., Klein, G. and Kehrenberg, C. (2018) The safety and quality of pork and poultry meat imports for the common European market received at border inspection post Hamburg harbour between 2014 and 2015. *PLoS One*, 13(2): e0192550.
20. Chaalal, W., Chaalal, N., Bourafa, N., Kihal, M., Diene, S.M. and Rolain, J.M. (2018) Characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from food products in Western Algeria. *Foodborne Pathog. Dis.*, 15(6): 353-360.
21. Dehkordi, F.S., Gandomi, H., Basti, A.A., Misaghi, A. and Rahimi, E. (2017) Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, 6(1): 104.
22. Wang, W., Baloch, Z., Jiang, T., Zhang, C., Peng, Z., Li, F., Fanning, S., Ma, A. and Xu, J. (2017) Enterotoxigenicity and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from retail food in China. *Front. Microbiol.*, 8(1): 2256.
23. Seedy, F.R.E., Samy, A.A., Salam, H.S.H., Khairy, E.A. and Koraney, A.A. (2017) Polymerase chain reaction detection of genes responsible for multiple antibiotic resistant *Staphylococcus aureus* isolated from food of animal origin in Egypt. *Vet. World*, 10(10): 1205-1211.
24. Shawish, R.R. and Al-Human, N.A. (2016) Contamination of beef products with staphylococcal classical enterotoxins in Egypt and Saudi Arabia. *GMS Hyg. Infect. Control*, 11(1): Doc08.
25. Ge, B., Mukherjee, S., Hsu, C.H., Davis, J.A., Tran, T.T.T., Yang, Q., Abbott, J.W., Ayers, S.L., Young, S.R., Crarey, E.T., Womack, N.A., Zhao, S. and McDermott, P.F. (2017) MRSA and multidrug-resistant *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats, 2010-2011. *Food Microbiol.*, 62(1): 289-297.
26. Benito, D., Gomez, P., Lozano, C., Estepa, V., Gomez-Sanz, E., Zarazaga, M. and Torres, C. (2014) Genetic lineages, antimicrobial resistance, and virulence in *Staphylococcus aureus* of meat samples in Spain: Analysis of immune evasion cluster (IEC) genes. *Foodborne Pathog. Dis.*, 11(5): 354-356.
27. Sergelidis, D., Papadopoulos, T., Komodromos, D., Komodromos, D., Sergelidou, E., Lazou, T., Papagianni, M., Zdragas, A. and Papa, A. (2015) Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from small ruminants and their meat at slaughter and retail level in Greece. *Lett. Appl. Microbiol.*, 61(5): 498-503.
28. Gonzalez-Fandos, M.E., Sierra, M., Garcia-Lopez, M.L., Garcia-Fernandez, M.C. and Otero, A. (1999) The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two Spanish dry sausages (chorizo and salchichon). *Meat Sci.*, 52(4): 411-419.
29. Ranucci, D., Miraglia, D., Branciarri, R., D'Ovidio, V. and Severini, M. (2004) Microbiological characteristics of hamburgers and raw pork sausages, and antibiotic-resistance of isolated bacteria. *Vet. Res. Commun.*, 28(Suppl 1): 269-272.
30. Aydin, A., Sudagidan, M. and Muratoglu, K. (2011) Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara region of Turkey. *Int. J. Food Microbiol.*, 148(2): 99-106.
31. Campbell, J.A., Dickson, J.S., Cordray, J.C., Olson, D.G., Mendonca, A.F. and Prusa, K.J. (2014) Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during thermal processing of frankfurters, summer sausage, and ham. *Foodborne Pathog. Dis.*, 11(1): 50-54.
32. ISO 6888-1. (1999) Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other Species): Part 1: Technique Using Baird-Parker Agar Medium. International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.
33. ISO 7218. (2003) Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs General Requirements and Guidance for Microbiological Examinations. International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.
34. Simon, S.S. and Sanjeev, S. (2007) Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control*, 18(12): 1565-1568.
35. Giacinti, G., Carfora, V., Caprioli, A., Sagrafoli, D., Marri, N., Giangolini, G., Amoroso, R., Iurescia, M., Stravino, F., Dottarelli, S., Feltrin, F., Franco, A., Amatiste, S. and Battisti, A. (2017) Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying *mecA* or *mecC* and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *J. Dairy Sci.*, 100(10): 7857-7863.
36. European Commission Regulation (EC) n 2005/2073. (2005) Microbiological Criteria for Foodstuffs of 15 November 2005. Official Journal of European Union, No. L338/1.
37. Official Journal of the Algerian Republic (2016). Interministerial decree: The Microbiological Criteria Regarding Foodstuffs of 04 October 2016. No.39.
38. European Committee on Antimicrobial Susceptibility

- Testing (EUCAST). (2017) Breakpoint Tables for Interpretation of Zone Diameters (Version 1.0). Guidelines. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
39. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). (2013) Breakpoint Tables for Interpretation of Zone Diameters (Version 1.0). Guidelines. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.
 40. Liu, H., Meng, L., Dong, L., Zhao, S., Lan, X., Wang, J. and Zheng, A.N. (2017) Prevalence antimicrobial susceptibility and molecular characterization of SA isolated from dairy herds in Northern China. *J. Dairy Sci.*, 100(11): 1-8.
 41. Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N. and Nostro, A.L. (2007) Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control*, 18(3): 196-200.
 42. Osman, K.M., Amer, A.M., Badr, J.M. and Saad, A.S. (2015) Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* species in chicken and beef raw meat in Egypt. *Foodborne Pathog. Dis.*, 12(5): 406-413.
 43. Akkou, M., Antri, K., Bachtarzi, M.A., Bes, M., Tristan, A., Dauwalder, O., Kaidi, R., Meugnier, H., Tazir, M., Etienne, J., Laurent, F. and Ramdani-Bougues, N. (2016) Phenotypic and genotypic characterization of *Staphylococcus aureus* strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. *Pak. Vet. J.*, 36(2): 184-188.
 44. Matallah, A.M., Bouayad, L., Boudjellaba, S., Mebkhou, F., Hamdi, T.M. and Ramdani-Bougues, N. (2019) *Staphylococcus aureus* isolated from selected dairies of Algeria: Prevalence and susceptibility to antibiotics. *Vet. World*, 12(2): 205-210.
 45. Osman, K., Alvarez-Ordóñez, A., Ruiz, L., Badr, J., ElHofy, F., Al-Maary, K.S., Moussa, I.M.I., Hessain, A.M., Orabi, A., Saad, A. and Elhadidy, M. (2017) Antimicrobial resistance and virulence characterization of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from imported beef meat. *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, 16(1): 35.
 46. Ndahi, M.D., Kwaga, J.K., Bello, M., Kabir, J., Umoh, V.J., Yakubu, S.E. and Nok, A.J. (2014) 'Prevalence and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from raw meat and meat products in Zaria, Nigeria. *Lett. Appl. Microbiol.*, 58(3): 262-269.
 47. Normanno, G., Corrente, M., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Parisi, A., Greco, G., Bellacicco, A.L., Virgilio, S. and Celano, G.V. (2007) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int. J. Food Microbiol.*, 117(2): 219-222.
 48. Arslan, S. and Ozdemir, F. (2017) Molecular characterization and detection of enterotoxins, methicillin resistance genes and antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* from fish and ground beef. *Pol. J. Vet. Sci.*, 20(1): 85-94.
 49. Hennekinne, J.A., De Buyser, M.L. and Dragacci, S. (2012) *Staphylococcus aureus* and its food poisoning toxins: characterization and outbreak investigation a review. *FEMS Microbiol. Rev.*, 36(4): 815-836.
 50. Gutierrez, D., Delgado, S., Vazquez-Sanchez, D., Martinez, B., Cabo, M.L., Rodriguez, A., Herrera, J.J. and Garcia, P. (2012) Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. *Appl. Environ. Microbiol.*, 78(24): 8547-8554.
 51. Gounadaki, A.S., Skandamis, P.N., Drosinos, E.H. and Nychas, G.J. (2008) Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiol.*, 25(2): 313-323.
 52. Khanal, G. and Poudel, S. (2017) Factors associated with meat safety knowledge and practices among butchers of Ratna Nagar municipality, Chitwan, Nepal: A cross-sectional study. *Asia Pac. J. Public Health*, 29(8): 683-691.
 53. Odetokun, I.A., Ballhausen, B., Adetunji, V.O., Ghali-Mohammed, I., Adelowo, M.T., Adetunji, S.A. and Fetsch, A. (2018) *Staphylococcus aureus* in two municipal abattoirs in Nigeria: Risk perception, spread and public health implications. *Vet. Microbiol.*, 216(1): 52-59.
 54. Ed-Dra, A., Filali, F.R., El Allaoui, A. and Aboulkacem, A. (2017) Factors influencing the bacteriological quality of sausages sold in Meknes city, Morocco. *Int. Food Res. J.*, 24(3): 933-938.
 55. Pu, S., Wang, F. and Ge, B. (2011) Characterization of toxin genes and antimicrobial susceptibility of *S. aureus* isolates from Louisiana retail meats. *Foodborne Pathog. Dis.*, 8(2): 299-306.
 56. Alibayov, B., Zdeňková, K., Purkrťová, S., Demnerová, K. and Karpišková, R. (2014) Detection of some phenotypic and genotypic characteristics of *Staphylococcus aureus* isolated from food items in the Czech republic. *Ann. Microbiol.*, 64(4): 1587-1596.
 57. Algerian Ministry of Agriculture and Rural Development (MADR). Veterinary Services Directorate. (2014) List of Prohibited Pharmaceutically Active Substances in Veterinary Medicine n 14-03/624 Ministerial Note, Guidances.
 58. Costa, W.L., Jdos, S.F., Carvalho, J.S., Cerqueira, E.S., Oliveira, L.C. and Almeida, R.C. (2015) Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meats and prepared foods in public hospitals in Salvador, Bahia, Brazil. *J. Food Sci.*, 80(1): M147-M150.
 59. Mathew, A.G., Cissell, R. and Liamthong, S. (2007) Antibiotic resistance in bacteria associated with food animals: A United States perspective of livestock production. *Foodborne Pathog. Dis.*, 4(2): 115-133.
 60. Parkunan, T., Ashutosh, M., Sukumar, B., Chera, J.S., Ramadas, S., Chandrasekhar, B., Kumar, S.A., Sharma, R., Kumar, M.S. and De, S. (2019) Antibiotic resistance: A cross-sectional study on knowledge, attitude, and practices among veterinarians of Haryana state in India. *Vet. World*, 12(2): 258-265.
 61. Pfeiler, T.M. and Egloff, B. (2018) Personality and meat consumption: The importance of differentiating between type of meat. *Appetite*, 130(1): 11-19.
 62. Nesbitt, A., Majowicz, S., Finley, R., Pollari, F., Pintar, K., Marshall, B., Cook, A., Sargeant, J., Wilson, J., Ribble, C. and Knowles, L. (2008) Food consumption patterns in the waterloo region, Ontario, Canada: A cross-sectional telephone survey. *BMC Public Health*, 8(1): 370.
 63. Rozin, P., Hormes, J.M., Faith, M.S. and Wansink, B. (2012) Is meat male? A quantitative multimethod framework to establish metaphoric relationships. *J. Consum. Res.*, 39(3): 629-643.
 64. Wu, G., Yuan, Q., Wang, L., Zhao, J., Chu, Z., Zhuang, M., Zhang, Y., Wang, K., Xiao, P., Liu, Y. and Du, Z. (2018) Epidemiology of foodborne disease outbreaks from 2011 to 2016 in Shandong Province, China. *Medicine (Baltimore)*, 97(45): e13142.
 65. Bremer, V., Bocter, N., Rehmet, S., Klein, G., Breuer, T. and Ammon, A. (2005) Consumption, knowledge and handling of raw meat Germany. *J. Food Prot.*, 68(4): 785-789.
 66. Conter, M., Zanardi, E., Ghidini, S., Pennisi, L., Vergara, A., Campanini, G. and Ianieri, A. (2008) Consumers' behaviour toward typical Italian dry sausages. *Food Control*, 19(6): 609-615.
 67. Sampers, L., Berkvens, D., Jaxsens, L., Ciocci, M.C., Dumoulin, A. and Uyttendaele, M. (2012) Survey of Belgian consumption patterns and consumer behavior of poultry meat to provide insight in risk factors for campylobacteriosis. *Food Control*, 26(2): 293-299.

*Epidémiologie des toxi-infections alimentaires
à l'égard des saucisses crues type « Merguez »,
et le comportement d'usage des antibiotiques
parmi les consommateurs Algériens.*

Article. 2

Cross-sectional survey towards sausage food-borne poisoning in Algeria:
Prevalence, risk factors, vulnerable consumers, evolution tendency and
antibiotic use behaviors

A. HACHEMI, S. ZENIA, S. ZAIDI and K. AIT-LOUDHIA.

« Submitted Article »

Avant-propos

Article 2.

Enquête transversale sur les toxi-infections alimentaires causées par les saucisses en Algérie: prévalence, facteurs de risque, catégories de personne à risque, tendance d'évolution et comportements d'utilisation d'antibiotiques.

La population humaine tend à augmenter à 9,7 milliards en 2050, selon les projections démographiques des Nations Unies (Nations Unies, 2019). Cette situation a déclenché une augmentation de la consommation alimentaire mondiale et une importance accrue à la sécurité alimentaire de la table à l'étable. Cependant, lorsque des agents pathogènes contaminent les aliments, ils peuvent provoquer des maladies d'origine alimentaire, souvent appelées «Toxi-infections alimentaires». En outre, il existe un large éventail de virus qui ont été liés à une toxi-infection alimentaire (Iturriza-Gomara et O'Brien, 2016), en plus des bactéries. Le *norovirus* est la cause la plus fréquente de gastro-entérite non bactérienne (Somura et al., 2019). Il s'agit d'une infection résultant de l'ingestion d'aliments contaminés par certains agents infectieux ou leurs toxines (Kassahun et Wongiel, 2019). De plus, lorsque la toxi-infection alimentaire résulte de l'apparition d'au moins deux cas d'une symptomatologie gastro-intestinale dont on peut rapporter la cause à une même origine alimentaire, il s'agit de toxi-infection alimentaire collective (TIAC), qui peut provoquer des symptômes rapides tels que nausées, vomissements et diarrhée (Communément appelée intoxication alimentaire), mais aussi des maladies de longue durée tel que le cancer, l'insuffisance rénale ou hépatique et les troubles cérébraux ou nerveux (Hernández-Cortez et al., 2017).

Bien que le fardeau des maladies d'origine alimentaire est un problème mondial de santé publique, les régions Africaines classées par l'OMS ont les taux d'incidence et de mortalité les plus élevés, y compris les enfants de moins de cinq ans avec plus de 91 millions chaque année et 137 000 décès (OMS, 2015). Ces maladies peuvent être plus graves chez les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées ou celles présentant une déficience du système immunitaire (Odeyemi, 2016). Les enfants qui survivent à certaines graves maladies d'origine alimentaire peuvent avoir un retard de développement physique et mental, avec des conséquences certaines pour leur qualité de vie. En Algérie, plus de 15 233 cas de toxi-infection alimentaire avec 16 décès et des cas d'hospitalisation ont été enregistrés, entre 2016 et 2017. De plus, 14 wilayas ont eu plus de 200 cas en 2017 (Algerian Ministry of Health, 2018).

Récemment, cependant, il y a eu un regain d'intérêt pour la sécurité alimentaire des consommateurs en ce qui concerne les produits typiques telle la «Merguez»; une saucisse crue d'origine Nord-Africaine largement consommée en Algérie (Hachemi *et al.*, 2019) ; qui a été fabriquée dans un environnement non industriel, caractérisée par une production par lots à petite échelle (Conter *et al.*, 2008) et favorable à la croissance des agents pathogènes (Ed-Dra *et al.*, 2018).

Les antibiotiques, couramment utilisés dans les pratiques médicales modernes, sont les médicaments les plus fréquemment prescrits; qui ont sauvé des centaines de millions de personnes au cours du dernier siècle (Liu *et al.*, 2019). Malheureusement, les patients ont souvent des idées fausses sur les avantages du traitement antibiotique pour les formes virales de toxi-infection alimentaire (Saengcharoen *et al.*, 2012) et l'utilisation inappropriée d'antibiotiques comme le non respect des doses et l'automédication. Par conséquent, la prescription excessive d'antibiotiques est répandue dans le monde entier, avec jusqu'à 50% des prescriptions d'antibiotiques inutiles en milieu ambulatoire (Liu *et al.*, 2019). Ainsi, une utilisation prudente des antibiotiques est essentielle pour préserver leur efficacité clinique, tandis que la réduction de l'utilisation inutile réduira la complexité de la résistance aux antibiotiques (El Sherbiny *et al.*, 2019) à l'origine de la prolongation de la durée d'hospitalisation et de l'utilisation accrue des ressources de soins de santé (Sutthiruk *et al.*, 2018).

Une situation qui a été compliquée par la forte prévalence de nouvelles formes de résistance aux antibiotiques et l'émergence de souches multi-résistantes, qui causent 700 000 décès par an (OMS, 2015), augmentant ainsi le taux d'échecs thérapeutiques, en particulier avec l'utilisation courante des antibiotiques en médecine humaine et vétérinaire, et les multiples voies de transmission aux humains, notamment les aliments d'origine animale et en particulier la viande (Kassahun et Wongiel, 2019). Les statistiques prédictives estiment que plus de 10 millions de personnes mourraient chaque année en raison de la résistance aux antimicrobiens d'ici 2050, dépassant le cancer comme principale cause de décès (O'Neil, 2014). La diarrhée reste la principale cause de décès, en particulier chez les enfants des pays en développement et pauvres en ressources (Odeyemi, 2016).

Plusieurs indications de prescription irrationnelle d'antibiotiques ont été rapportées dans tous les pays (Kaae *et al.*, 2019). La situation dans les pays en développement est plus critique en raison de la possibilité de les acheter sans assistance médicale (El Sherbiny *et al.*, 2019), ce qui rend le traitement moins efficace, voire inefficace. Les études couvrant la prescription et l'utilisation d'antibiotiques dans la zone Nord-Africaine sont cependant relativement rares (Kaae *et al.*, 2019). En Algérie, des connaissances sur l'épidémiologie de la consommation de viande rouge en général et de Merguez plus précisément sont également nécessaires pour cibler les futures interventions (Hachemi *et al.*, 2019). Cependant, comme les auteurs le savent, de nombreux aspects pertinents de l'utilisation d'antibiotiques pour les toxi-infections alimentaires et le comportement médical parmi les consommateurs malades restent ainsi non documenté en Algérie, en raison à la fois des recherches limitées; ainsi que le fait que; la plupart des études menées sont basées sur une approche quantitative.

Cette étude a été conçue dans un premier temps pour étudier les facteurs de risque potentiels qui ont une association significative avec la survenue des toxi-infections alimentaires chez les consommateurs de saucisses en Algérie. Deuxièmement, les principales catégories de consommateurs les plus exposées. Enfin, évaluer l'évolution des cas et explorer la culture de l'utilisation d'antibiotiques après une toxi-infection alimentaire chez les consommateurs malades / hospitalisés ciblés.

Par conséquent, notre enquête tend à estimer les tendances globales en ce qui concerne l'utilisation d'antibiotiques, les attitudes (automédication) et les comportements ainsi que les indications d'une utilisation inappropriée. Et ce, afin d'établir les données épidémiologiques pour évaluer l'efficacité des interventions des cliniciens mais aussi évaluer le comportement des consommateurs malades.

Cross-sectional survey towards sausage food-borne poisoning in Algeria: Prevalence, risk factors, vulnerable consumers, evolution tendency and antibiotic use behaviors.

Amina HACHEMI¹, Safia ZENIA², Sara ZAIDI¹, and Khatima AIT-LOUDHIA¹

¹ Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria;

² Research Laboratory Management of Local Animal Resources (GRAAL), Higher National Veterinary School, Rue Issad Abbes, Oued Smar, Algiers 16000, Algeria;

Corresponding author: Amina HACHEMI, e-mail: hachemi.amina5@hotmail.fr

ORCID ID: <https://orcid.org/0000-0001-9637-3802>

ABSTRACT

This study was designed to investigate firstly, food-borne poisoning prevalence, potential risk factors among Algerian sausage consumers, and to explore vulnerable groups at risk. Secondly, to assess the evolution of the cases and estimate behaviors awards antibiotics use after food-borne poisoning for targeted sick/hospitalized Algerian consumers. From August 2018 to June 2019, a total of 800 structured questionnaires were distributed randomly to meat consumers from ten (10) departments of Algiers. The data collected were analyzed with different statistical approaches.

The results showed that out of the 504 sausage consumers, 22.15% revealed having food-borne poisoning after sausage consumption. Over 53.60 % of sick consumers were hospitalized. The risk factors recorded were: The ages of 18 and 40 years (89.69% OR=1.323; [0.64-2.73]), males (33.00%; OR=1.275; [0.785-2.070]), consumers living with their families (84.54%; OR=1.387; [0.753-2.554]) and consumers that had children (22.68%; OR=1.62; [0.155 -0.320]) which were more affected and more likely to get food-borne diseases after sausage consumption. In addition, young (p=0.00002; 76.29%), woman giving birth (p=0.00001; 25.77%) and pregnant (50.52%) were found to be vulnerable consumers with high risk factors of OR=0.35, OR=2.021, and OR=1.43, respectively. Thus, immuno-deficiency consumers (42.27%; OR=3.361) were found to be the leading risk factor recorded among vulnerable consumers. For antibiotic use behavior, out of 97 sick consumers, 52.58% (n=51/97; p=0.003; OR=1.965) had taken antibiotics by themselves, and 41.24% (p=0.008; OR=1.87) had interrupted the antibiotics treatment. Similarly, highest self-medication were recorded among hospitalized consumers (71.15%; n=37/97) with OR= 7.45 (p=0.00001). Regrettably, the majority (28.85%) declared interrupt the therapeutic protocol after medical guidance with OR=9.96 (p=0.0001).

Our study provides for the first time information about baseline of the attitude, and behavior regarding antibiotics use among the Algerian sausage consumers following a food-borne. Thus, it can be concluded that raw sausage must be consumed with precaution for vulnerable groups at risk (YOPIs). As perspective, public education programs should therefore be developed, especially to areas of misconceptions of antibiotics use and vulnerable groups at risk.

Keywords: consumers, antibiotics-use, foodborne, risk factors, sausages, hospitalization.

INTRODUCTION

The human population tends to increase to 9.7 billion in 2050, according to United Nations population projections (United-Nations, 2019). This situation triggered an increase in global food consumption and more importance to food safety from farm to fork. However, when pathogens contaminate food, they can occur food-borne illness, often called "food poisoning". Furthermore, there is a wide range of viruses that have been linked to food-borne poisoning (Iturriza-Gomara and O'Brien, 2016), in addition to bacteria. Norovirus is the most commonly cause of nonbacterial gastroenteritis (Somura et al., 2019). It is about an infection resulting from the ingestion of food contaminated by certain infectious agents or their toxins (Kassahun and Wongiel, 2019). Moreover, when food poisoning outbreak is resulting from the ingestion of a common food of two or more cases of a similar food-borne disease, it's about TIAC "Collective food poisoning", which can cause rapid symptoms such as nausea, vomiting and diarrhea (often referred to as food poisoning), but also long-term illnesses such as cancer, renal or hepatic insufficiency and cerebral or nervous disorders (Hernández-Cortez et al., 2017). While the burden of food-borne illness is a global public health problem, the WHO regions of Africa have the highest incidences and mortality rates, including children under five with more than 91 million each year and 137 000 deaths (WHO, 2015). These diseases can be more serious in children, pregnant women, elderly people or those with a deficiency of the immune system (Odeyemi, 2016). Children who survive some of the most serious food-borne illnesses may have delayed physical and mental development, with definite consequences for their quality of life.

In Algeria, more than 15 233 cases of food-borne poisoning with 16 deaths and cases of hospitalization were recorded, between 2016 and 2017. More, 14 wilaya had more than 200 cases during 2017 (Algerian Ministry of Health, 2018). Recently, however, there has been a renewed interest of food safety consumers to typical's food safety as "Merguez" ; North African raw sausage widely consumed in Algeria (Hachemi et al., 2019) that have been made in non-industrial environment, characterized by smallscale batch production (Conter et al., 2008) and favorable to pathogen growth (Ed-Dra et al., 2018).

Antibiotics, commonly used in modern medical practices, are the most frequently prescribed drugs; which have saved hundreds of millions people over the past century (Liu et al., 2019a). Unfortunately, patients often have misconceptions about the benefits of antibiotic treatment for viral forms of food-borne poisoning (Saengcharoen et al., 2012) and inappropriate antibiotic use like skipping doses and self-medication.

Therefore, over-prescription of antibiotics is widespread worldwide, with up to 50% of unnecessary antibiotic prescriptions in ambulatory settings (Liu et al., 2019b). Thus, prudent antibiotics use is essential for preserving their clinical effectiveness, while the reduction of unnecessary use will decrease the complexity of antibiotic resistance (El Sherbiny et al., 2019) origin of extended length of hospital stay and higher healthcare resource utilization (Sutthiruk et al., 2018). A situation that has been complicated by the high prevalence of new forms of antibiotic resistance and the emergence of multidrug-resistant strains, which cause 700,000 deaths annually (WHO, 2015), thus raising the rate of therapeutic failures, especially with the common use of antibiotics in medicine human and veterinary, and multiple routes of transmission to humans, including food of animal origin and in particular meat (Kassahun and Wongiel, 2019). Predictive statistics estimate that more than 10 million people would die every year because of antimicrobial resistance by 2050 surpassing cancer as a leading cause of death (O'Neil, 2014). Diarrhea remains the leading cause of death, especially among children in developing and resource poor countries (Odeyemi, 2016).

Several indications of irrational prescribing of antibiotics were found in all countries (Kaae et al., 2019). The situation in developing countries is more critical because of the possibility of buying them without medical guidance (El Sherbiny et al., 2019) causing treatment to be less effective or even ineffective. Studies covering the prescribing, and use of antibiotic in the North-African area is, however, relatively scarce (Kaae et al., 2019). In Algeria, knowledge about the epidemiology of consumption of red meat in general and Merguez more precisely is likewise needed to target future interventions (Hachemi et al., 2019). However, as the authors know, many relevant aspects of the antibiotic use for food-borne poisoning and medical behavior among sick consumers thereby remain undocumented in Algeria, due to both the limited researches; as well as the fact that; most conducted studies are based on quantitative approach.

This study was designed to firstly, investigate potential risk factors that have a significant association with the occurrence of food-borne poisoning among sausage consumers. Secondly, the main categories of consumers most exposed. Finally, assess the evolution of the cases and to explore the culture of antibiotics use after food-borne poisoning for targeted sick/hospitalized consumers. Hence, our investigation tends to estimate overall tendencies with regard to antibiotics use, attitudes (Self-medication) and behaviors as well as indications of inappropriate use. In order to, establishes a epidemiological data to assess the effectiveness of interventions of clinicians but also evaluate the sick consumers' comportment.

MATERIALS AND METHODS

Ethical approval

The present study did not involve any invasive procedure, and hence, ethical approval is not required.

Informed consent

Informed consent was obtained from each participant.

The study design and data collection

This study was based on a self-administered questionnaire. Between June 2018 and April 2019, a cross-sectional epidemiological survey was carried out and included eight hundred (800) structured questionnaires randomly distributed to Algerian meat consumers. Our survey were included a total of 261 butcherries from ten (10) departments (Figure-1) with fifty (50) municipalities of Algiers capital of Algeria (Bab El Oued, Beraki, Bir Mourad Rais, Cheraga, Dar El Beida, Draria, El Harrach, Hussein Dey, Rouiba, and Zeralda).

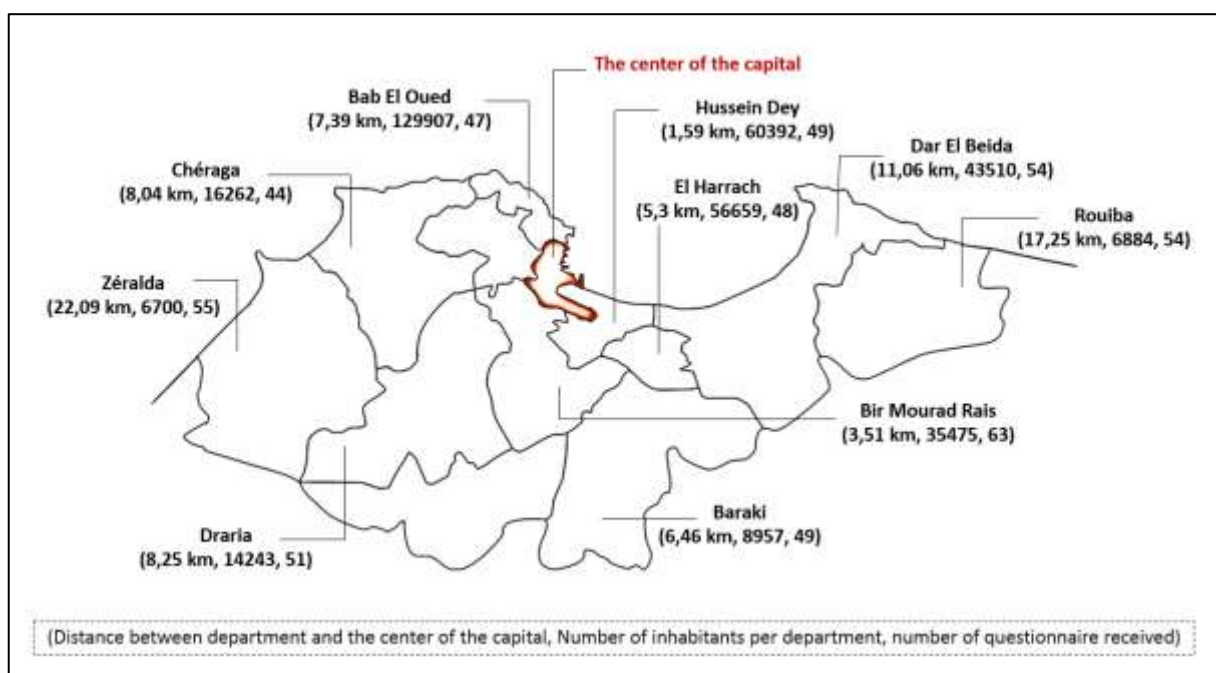


Figure-1: Map of Algiers showing location of the ten departments of questionnaires distribution

The study tool: Questionnaire

The questionnaire contained close-ended questions used to collect information on various aspects of sausage consumption. It consisted of structured questions divided into three (03) categories. Consumers were invited to participate in this investigation if they bought meat at the butcherries, where traditional sausages were usually sold.

The questionnaire was self-administered, however, consumers were assisted by the researcher if requested. The average time to complete the survey was 10 min. The first category comprised questions regarding the demographic characteristics of the respondents (Age, gender, place of purchase, having children, live with family, and studies). The second category involved information concerning consumption and vulnerable groups at risk (Young, Old, Pregnant and consumers with Immuno-deficiency). The third one studied food-borne poisoning evolution (Sick to hospitalized consumers) and their relationship with the occurrence of food poisoning in the respondents following sausage consumption. The last one is about antibiotic use behavior following food-borne disease: Reasons for consultation, antibiotics prescription and interruption of antibiotherapy) and their relationship with sick and hospitalized consumers. The questionnaire was pretested, modified, and refined before starting.

Statistical analysis

The study data were collected and analyzed using IBM SPSS statistical software version 20.0 (IBM, USA) for Windows with different statistical approaches. Descriptive statistics by calculating different prevalence and the Chi-square test. The odds ratio (OR) analysis univariable logistic model were performed to analyze the potential risk factors and their relation to the independent variables with $OR > 1$. All analyses were carried out at a 95% confidence level. The significance level for the homogeneity test fixed at $p < 0.05$.

RESULTS

Descriptive epidemiology

Sausage consumption

The investigation demonstrated the highest consumption frequency of sausage ($n=438/504$, 86.90%) among meat consumers respondents. Our results (Table-1) showed that four (04) variables among the seven (07) studied were considered risk factors. It is about the factors: Age, Gender, Habitat, and salaried consumers. Findings showed that young people (87.44 %; $n=383/438$; $OR=1.244$; $CI=[0.599-2.580]$), women (71%; $n=311/438$; $OR=1.143$; $CI=[0.654-1.996]$), consumers who live with their families (80.82%; $n=354/438$; $OR=1.83$; $CI=[1.030-3.261]$), and consumers with employees (75.80%; $n=332/438$; $OR=1.566$; $CI=[0.898-2.732]$) were more likely to consume sausage. Moreover, the most Merguez's consuming departments were Dar El Beida (96.29%), El Harrach (95.83%), Hussein Dey (91.66%), Bir Mourad Rais (88.68%), Beraki (87.75%), Draria (84.31%), Zeralda (83.63%), Rouiba (83.33%), Cheraga (81.81%), Bab El Oued (76.59%).

Table-1: Demographic characteristics

Variables	Number of consumers (%)	p-value	OR	CI
Age				
18 à 40 years old	383/438 (87.44)	0.344	1.244	0.599-2.580
41 à 65 years old	55/438 (12.55)			
Gender				
Man	311/438 (71.00)	0.22	1.143	0.654-1.996
Woman	127/438 (29.00)			
Habitat				
With family	354/438 (80.82)	4.335	1.83	1.030-3.261
Alone	84/438 (19.17)			
Having children				
Without children	132/438 (30.13)	0.07	/	/
With children	306/438 (69.86)			
Studies				
Secondary studies	25/438 (5.70)	0.13	/	/
Graduate studies	413/438 (94.29)			
Employees				
Yes	332/438 (75.80)	2.525	1.566	0.898-2.732
No	106/438 (24.20)			
Working women				
Yes	214/438(48.85)	0.082	/	/
No	224/438 (51.14)			
Place of purchase				
Bab El Oued	36/47 (76.59)	0.0002		
Beraki	43/49 (87.75)	0.00001		
Bir Mourad Rais	47/53 (88.68)	0.00001		
Cheraga	36/44 (81.81)	0.00001		
Dar El Beida	52/54 (96.29)	0.00001		
Draria	43/51 (84.31)	0.00001		
El Harrach	46/48 (95.83)	0.00009		
Hussein Dey	44/49 (91.66)	0.00002		
Rouiba	45/54 (83.33)	0.00002		
Zeralda	46/55 (83.63)	0.00006		

159

160 Food-borne poisoning's risk factors

161 Our analysis identified three categories that underline 12 risk factors among the 17 related to
 162 sausage consumption habits with an OR >1. The distribution of the risk factors was as follows:
 163 Prevalence of food-borne poisoning, demographic characteristics, vulnerable consumer's
 164 categories, and antibiotics use behaviors. The OR analysis of the assumed risk factors is
 165 summarized in Table-2 to 4. However, fifteen (15) risk factors combinations were found to be
 166 statistically significant $p < 0.0001$ for the homogeneity test.

167

Demographic characteristics

Regarding the risk factor analysis for food-borne illness (Table-2), our study showed five (05) risk factors. Furthermore, out of 438 sausage consumers, 97 (22.14 %) and 52 (53.60%) claimed to have food poisoning and be hospitalized after consuming sausage, respectively. Our findings demonstrated that respondents between the ages of 18 and 40 years (89.69% OR=1.323; [0.64-2.73]), consumers living with their families (84.54%; OR=1.387; CI=[0.753-2.554]), consumers that had children (22.68%; OR=1.62; CI=[0.155 -0.320]) and a high level studies (92.78%; OR=1.396; CI=[0.565-3.446]) were more affected and more likely to get food-borne diseases after sausage consumption. For gender variable, out of 127/438 of men consumers, 25.2% (n=32/127) reported having a food-borne poisoning after Merguez consumption; against more women consumers (n=311/438) with only 65 food-borne cases (20.9%) meaning that men (n=32/97; 33.00%; OR=1.275; CI=[0.785-2.070]) were more likely to get sick than women.

Table-2: Demographic characteristics

Risk factors	Number of sick consumers (%)	95% CI	p-value	OR	CI
Age					
18 à 40 years old	87/97 (89.69)	83.6-95.7	0.00001	1.323	0.64-2.73
41 à 65 years old	10/97 (10.31)	5.7-17.9			
Gender					
Man	32/97 (33.00)	24.4-42.8	0.00008	1.275	0.785-2.070
Woman	65/97 (67.00)	57.1-75.5			
Habitat					
With family	82/97 (84.54)	76-90.4	0.00001	1.387	0.753-2.554
Alone	15/97 (15.46)	9.6-23.9			
Having children					
Without children	75/97 (77.32)	68-84.5	0.0000007	1.62	0.959-2.749
With children	22/97 (22.68)	15.5-32			
Studies					
Secondary studies	07/97 (7.22)	3.5-14.2	0.00001	1.396	0.565-3.446
Graduate studies	90/97 (92.78)	85.8-96.5			
Place of purchase					
Bab El Oued	02/97 (2.06)	0.6-7.2	0.02		
Beraki	09/97 (9.28)	5-16.7			
Bir Mourad Rais	05/97 (5.15)	2.2-11.5			
Cheraga	04/97 (4.12)	1.6-10.1			
Dar El Beida	13/97 (13.40)	[8-21.6]			
Draria	12/97 (12.37)	[7.2-20.4]			
El Harrach	13/97 (13.40)	[8-21.6]			
Hussein Dey	13/97 (13.40)	[8-21.6]			
Rouiba	10/97 (10.31)	[5.7-17.9]			
Zeralda	16/97 (16.49)	[10.4-25.1]			

Thus, the departments of Zeralda (n=16/97; 16.49%), Dar El Beida, El Harrach, Hussein Dey (n=13/97; 13.40%), Draria (n=12/97; 12.37%), and Rouiba (n=10/97; 10.31%) had more sick consumers with p=0.02. In all the departments investigated, Zeralda was the leading department with the largest rate of sick consumers.

Vulnerable consumers

Regarding the vulnerable consumers who ate sausages, table-3 shows that young consumers (< 8 years old) (p=0.00002; 76.29%), woman consumers giving birth (p=0.00001; 25.77%) and pregnant consumers (50.52%) were found to be risk factors with OR=1.35; CI=[0.803-2.283], OR=2.021; CI=[1.172-3.485] and OR=1.43; CI=[0.910-2.249], respectively. In addition, Immuno-deficiency consumers (42.27%; OR=3.361, CI=[2.061-5.480]) were founded to be the leading risk factor recorded among vulnerable consumers with 40.19% of sick consumers (n=41/102), followed in descending order by woman consumers giving birth (n=25/75; 33.33%), pregnant consumers (n=49/191; 25.65) and young consumers (n=74/314; 23.56%), taking consumers by risk category.

Table-3: Consumers categories

Risk factors	Number of sick consumers (%)	95% CI	p-value	OR	CI
Immunodeficiency consumers					
Yes	41/97 (42.27)	32.4-54.8	0.127	3.361	2.061-5.480
No	56/97 (57.73)	47.8-67.1			
Pregnant consumers					
Yes	49/97 (50.52)	40.7-60.3	0.919	1.43	0.910-2.249
No	48/97 (49.48)	39.7-59.3			
Young consumers (< 8 years)					
Yes	74/97 (76.29)	66.9-83.6	0.00002	1.35	0.803-2.283
No	23/97 (23.71)	16.4-33.1			
Woman giving birth consumers					
Yes	25/97 (25.77)	18.1-35.3	0.00001	2.021	1.172-3.485
No	72/97 (74.23)	64.7-81.9			

Antibiotics use behavior

Three questions on antibiotics use behavior regarding sausage consumers (Table-4) had been asked. Out of 97 sick consumers, 41.24% (n=40/97; p=0.008; OR=1.87; CI=[1.17-2.99]) were received antibiotic therapy as a medicine after food-borne poisoning. Referring to interruption of antibiotherapy, 21.65% (n=21/97; p=0.025; OR=1.99; CI=[1.085-3.650]) were claimed to have interrupted the antibiotics treatment. Over half of the sick consumers had resorted to the process of self-medication 52.58% (n=51/97; p=0.003; OR=1.965; CI=[1.246-3.099]).

Similarly, our results demonstrated the highest self-medication among consumers who tend to be hospitalized (71.15%; n=37/97) with OR= 7.45 (p=0.00001; CI=[3.918-14.170]). Of the total hospitalized sick consumers, only half (n=19/97; 36.54%) reported that they took antibiotics with medical guidance with OR=3.34 (p=0.0001; CI=[1.733-6.457]). Regrettably, the majority (28.85%) declared that they interrupt the therapeutic protocol with OR=9.96 (p=0.0001; CI=[2.89-34.30]).

Table-4: Medical behavior sick consumers

Risk factors	Number of sick consumers (%)	95% CI	p-value	OR	CI
Sick consumers					
Antibiotherapy	40/97 (41.24)	32-51.2	0.008	1.87	1.17-2.99
Interruption of Antibiotherapy	21/97 (21.65)	14.6-30.8	0.025	1.99	1.085-3.65
Automedication	51/97 (52.58)	42.7-62.2	0.003	1.965	1.246-3.099
Hospitalized consumers					
Automedication	37/52 (71.15)	57.7-81.7	0.0001	7.45	3.918-14.17
Antibiotherapy	19/52 (36.54)	24.8-50.1	0.0001	3.34	1.733-6.457
Interruption of Antibiotherapy	15/52 (28.85)	18.3-42.3	0.0001	9.96	2.89-34.30

In the same context, figure-2 shows that, the tendency to self-medication (71.15%), to interrupt the antibiotherapy protocol (28.85%), and to resort to antibiotics (36.54%) after food-borne poisoning, is higher among hospitalized consumers than those just ill.

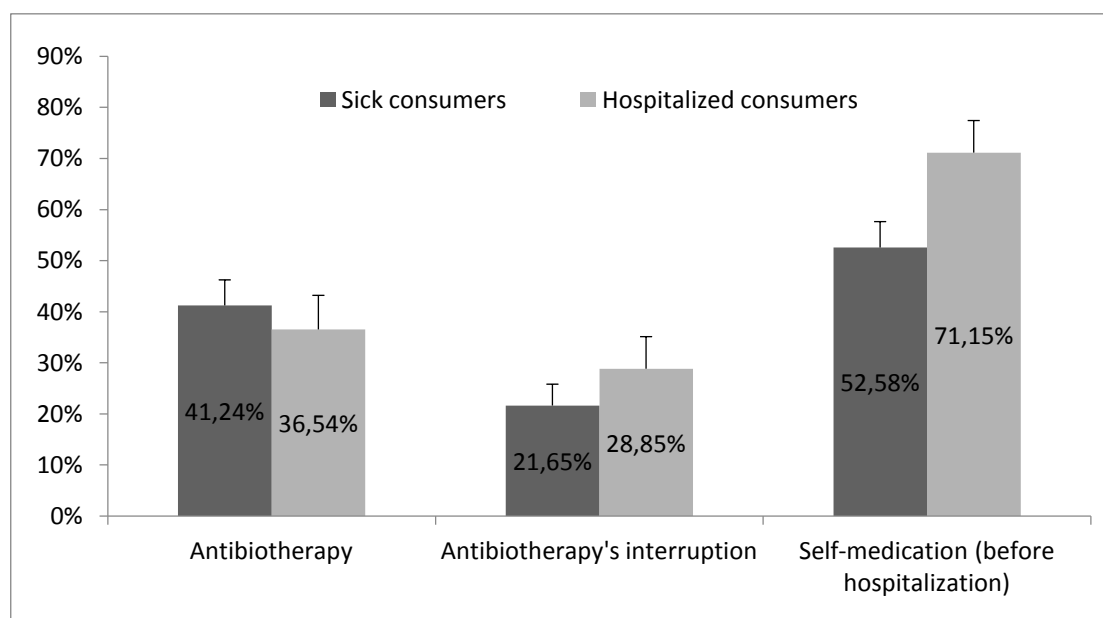


Figure-2: Antibiotics use among sick and hospitalized consumers

DISCUSSION

Foods that have been made with traditional raw materials using ingrained production methods have become more popular because of the increasing homogenization of food contributing to the progressive loss of peoples' cultural identity. Among these food products made from meat, sausage is perceived by consumers as closely linked to traditions (Conter et al., 2008). Artisanal sausage or “Merguez” is a North African specialty; regarded as the most popular variety of meat products broadly consumed despite that is very favorable to pathogen growth mainly due to its richness in nutriments (Ed-Dra, 2017). More, each year around the world, 48 million people get sick from a food-borne illness, 128000 are hospitalized, and 3000 die in each year (Kassahun and Wongiel, 2019). Firstly, our study was designed to investigate food-borne poisoning prevalence and potential risk factors among Algerian sausage consumers.

Our findings demonstrated the highest consumption frequency of sausage (n=438/504, 86.90%) among meat consumers who responded to our questionnaire (504/800). These results were in agreement with data already obtained by (Hachemi et al., 2019), advanced a high frequency of sausage consumption (n = 379/440, 86.14%) confirming the importance of this foodstuff in Algerian society. Regarding food-borne poisoning prevalence, in our survey, out of 438 sausage consumers, 97 (22.14 %) and 52 (53.60%) claimed to have food poisoning outbreaks and be hospitalized after consuming sausage, respectively. The hospitalization rate was 8.42%. Similar results have been reported in France, from 2006 to 2016 with 9 369 food-borne illness including 764 hospitalizations, representing an 8.2% hospitalization rate (BVS, 2018). A less consistent rate was recorded in the United States through study carried out previously by (Danielle M. Tack et al., 2019) revealed that 25 606 get sick after infections of food origin, 5893 were hospitalized and 120 were dead, in 2018. A situation that may be due to multiple origin of contamination, concerning Merguez poisoning: Animal origin, lack of hygiene or cross-contamination due to insufficient hygienic and sanitary practices (Sergelidis and Angelidis, 2017) (Gutierrez et al., 2012), (Gounadaki et al., 2008). More specifically, the quality of Merguez is mainly influenced by the carcasses' bacterial contamination often linked to contamination by intestinal contents during slaughter (Khanal and Poudel, 2017). Thus, the poor quality of sausage manufacturing practices (Simon and Sanjeev, 2007) such as processing, storage, handling, poor personal hygiene and uncontrolled sanitary conditions in the food industries (Ed-Dra, 2017). Furthermore, butchers have a huge role in prevention of meat-borne diseases. During a cross-sectional survey realized by (Khanal and Poudel, 2017) in Nepal, to ascertain factors associated with meat hygiene among the butchers, the study shows that despite regular handling of the meat, the

butchers lacked knowledge and practices in terms of meat hygiene. The same results were obtained in Nepal (Adhikari; et al., 2012), India (Rajesh, 2006), Kenya (Chepkemai; et al., 2015) and Ethiopia (Garedew et al., 2015) which revealed that none of the meat handlers or butchers had any formal training on meat handling hygiene. Also, one of the factors that should not be underestimated and can explain the high prevalence of food poisoning due to Merguez is the poor storage habits including the transport time (more than 2 hours after purchase); methods of storing sausages at home, before and during consumption; and the fact that consumers freeze the sausage (Hachemi et al., 2019).

Our survey included a total of 261 butchers from ten (10) departments of Algiers, the capital of Algeria. Although, the departments of Zeralda (16.49%), Dar El Beida (13.40%), El Harrach (13.40%) and Hussein Dey (13.40%), Draria (12.37%) and Rouiba (10.31%) had more sick consumers. The high rate of food poisoning observed in these municipalities can be explained by the distance between these departments and the capital. More precisely, Zeralda, Dar El Beida, Draria and Rouiba are located far from the center of Algiers (Figure-1). Therefore, there is less rigorous control. Also, consumers are less aware awareness as is the case of neighboring departments Algiers center. However, the high rate of food poisoning registered in the departments of El Harrach and Hussein Dey can be directly related to high agglomeration. Also, as a hypothesis, (Hachemi et al., 2019) advanced that these two departments have meat supply services with the two largest slaughterhouses of cattle and sheep.

Regarding the risk factors analysis, our results showed that among the fifteen (15), five (05) risk factors were found as demographic factors. Concerning the age of respondents, our results agree with these obtained by (Hachemi et al., 2019) showing that consumers belong to the age category between 18 to 40 years were most affected by food poisoning with a number of 87/97 (89.69%). For gender variable, out of 127/438 of men consumers, 25.2% (n=32/127) reported having a food-borne poisoning after Merguez consumption; against more women consumers (n=311/438) with only 65 food-borne cases (20.9%) meaning that men (n=32/97; 33.00%) were more likely to get sick than women. This observation is the same as that observed in the investigation previously established by (Hachemi et al., 2019). In the survey conducted by (Kassahun and Wongiel, 2019) in Ethiopia, a total of 35 cases of non-fatal food poisoning were included. Among risk factors recorded, males (OR=3.57; 95%; CI=1.37–9.32) were significantly associated with food poisoning. The higher rate among males can be explained by the fact that the Algerian men tend to eat more sausage than women. This specificity in males is associated with masculinity and power as explained by (Rozin et al., 2012).

Thus, to emphasize that the Algerian man eats more outside which is still a risk factor according to (Hachemi et al., 2019). Further, consumers who live with their families were more likely to have food-borne illness than those living alone (84.54%). Similar results have been obtained by (Hachemi et al., 2019) and may suggest again that handling during preparation is one of the main causes of food-borne poisoning (Chepkemai et al., 2015) (Ed-Dra, 2017). For consumers with or without children, respondents which had children (22.68%) were more affected and more likely to get food-borne diseases after sausage consumption, perhaps due to a possible negligence from mothers, consequence of a greater workload. Otherwise, consumers with high-level studies (92.78%) were more affected and more likely to contract food-borne illness after eating sausage. (Radulescu and Cetina, 2011) had already shown that highly educated persons have less serious healthcare concerns than those with lower levels of education (Radulescu and Cetina, 2011).

More, as mentioned in the statements of the federal food safety awareness campaign, there are four vulnerable populations: the elderly, young children, people with compromised immune systems and pregnant women. Our results showed that among vulnerable people, immunodeficiency consumers and woman consumers giving birth were recorded to be the leading risk factors with (40.19%; OR=3.361; CI=[0.803-2.283]) and (33.33%; OR=2.021; CI=[1.172-3.485]), respectively. Similar results had also been advanced by (Murray et al., 2017) with over 75% for each group for populations vulnerable to food-borne illness. In contrast, the Canadian study had identified the elderly as being at higher risk of food-borne illness than young adults (Health-canada, 2010). As an explanation, our results can be extremely linked to lifestyle and the Algerian traditions. A society that gives meat and meat products much more to immune-deficiency persons and women giving birth, as a synonymous of take care.

Regarding the antibiotics use behavior, out of 97 sick consumers, almost half (41.24%) was received antibiotic therapy as a medicine after food-borne poisoning. Similar results were revealed by (Awad and Aboud, 2015) with 44.3%. In contrast, (El Sherbiny et al., 2019) was recorded a higher rate of 66.7%, in Egypt. Also, 21.65% of sick consumers were claimed to have interrupted the antibiotics treatment which remains a very low rate, compared to the rates advanced in Egypt and Thailand by (El Sherbiny et al., 2019) and (Saengcharoen et al., 2012) with 63.7% and 45%, respectively. Further, over half of the sick consumers (52.58%) had resorted to the process of self-medication with highest self-medication among consumers who tend to be hospitalized (71.15%). Similar results were registered by (Vaananen et al., 2006) in Spain with 41% and (El Sherbiny et al., 2019) in Egypt with 32.7%.

Other studies in Egypt (Abdel Gawad Elmasry et al., 2013), Kuwait (Awad and Aboud, 2015), and Hong Kong (You et al., 2008) had acquired a low rate of antibiotics use without a prescription with 29.8%, 27.5% and 9%, respectively. Findings may be explained by ease purchase of antibiotics in developing countries without prescription (Murray et al., 2017). It has been estimated that from 20% to 50% of antibiotics use is either unnecessary or inappropriate (Dellit; et al., 2007) which contributed to the development of antimicrobial resistance (Wutzke et al., 2007) (Cosgrove; 2006). Although multidrug-resistant are directly related to the time patients spend in hospital and the departments to which they were admitted (Abat et al., 2018). Similarly, 36.54% of hospitalized sick consumers reported taking antibiotics with medical guidance. From them, 28.85% declared interrupt the therapeutic protocol, which is a significant part. The inappropriate and excessive uses of antibiotics arise from a interaction between numerous factors related to patient's knowledge and attitude, such as patient demand; wrong habits of self-medication; patients' experience with antibiotics; and insufficient patient education (You et al., 2008) (Costelloe et al., 2010). Self-medication can be linked also to poor socio-economic status, the high cost of doctors' fees and the inaccessibility of health care in certain regions (Abdel Gawad Elmasry et al., 2013). Many factors could influence doctors' decisions, leading them to breach the principles of a good clinical practice (Gualano et al., 2015) (Teixeira Rodrigues et al., 2013). This situation is more critical in developing countries resulting from inadequate regulation of the distribution and sale of prescription drugs (El Sherbiny et al., 2019).

CONCLUSION

This study provides current data on the habits of Algerian sausage consumers in terms of potential risk factors associated with the occurrence of food poisoning as well as the use of antibiotics after food poisoning for sick and hospitalized consumers. Consequently, this study revealed that the population of Algiers suffers from an inappropriate use of antibiotics (self-medication), which must be guided by different strategies: easy access to a health service in order to monitor the use of antibiotics by health professionals, adopt educational programs for consumers in order to raise their awareness of the dangers of antibiotic abuse, including bacterial resistance, as well as the high financial cost, and finally, implement regulations aimed at restrict unlimited access to antimicrobial drugs.

Authors' Contributions

AH conducted the studies, experimental procedures. KA participated in the design of the studies. AH and SZ were carried out the statistical analysis and interpretation. The manuscript was drafted by AH and reviewed by SZ. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgments

The authors would like to express their appreciation and thanks to Amina Bessas and Mohamed Mehdi Hachemi for great help, and encouragement through this study. All authors did not receive financial assistance from any source.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCES

Abat, C., Raoult, D., Rolain, J.M., 2018. Are we living in an antibiotic resistance nightmare? Clin Microbiol Infect 24, 568-569.

Abdel Gawad Elmasry, A., Samir Mohamed Bakr, A., Alaaeldin Abdou Abdelaziz Kolkailah, D., Almohamady Ibrahim Khaskia, M., Essam Eldin Mohammed, M., Hatem Mohamed Amin Riad, O., Ashraf Khalil Abdelrahman, S., 2013. Pattern of antibiotic abuse – a population based study in Cairo. Egyptian Journal of Chest Diseases and Tuberculosis 62, 189-195.

Adhikari, B.M., Subedi, R.P., Subba, D., 2012. A study on standard of buffalo meat hygiene in Dharan. J. Food Sci. & Technol. Nepal 7, 98-101.

Algerian Ministry of Health, 2018. Statistics on collective foodborne diseases in Algeria between 2016 and 2017 In: Promotion, T.G.D.o.P.a.H. (Ed.), City.

Awad, A.I., Aboud, E.A., 2015. Knowledge, attitude and practice towards antibiotic use among the public in Kuwait. PLoS One 10, e0117910.

BVS, 2018. Les toxi-infections alimentaires collectives dans les hauts de France Bulletin de veille sanitaire.

Chepkemai, S., Lamuka, P.O., Abong, G.O., Matofari, J., 2015. Sanitation and hygiene meat handling practices in small and medium enterprise butcherries in Kenya - Case study of Nairobi and Isiolo counties. Internet Journal of Food Safety 17, 64-74.

Conter, M., Zanardi, E., Ghidini, S., Pennisi, L., Vergara, A., Campanini, G., Ianieri, A., 2008. Consumers' behaviour toward typical Italian dry sausages. Food Control 19, 609-615.

Cosgrove, S.E., 2006. The relationship between antimicrobial resistance

- and patient outcomes: Mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases* 42, 82-89.
- Costelloe, C., Metcalfe, C., Lovering, A., Mant, D., Hay, A.D., 2010. Effect of antibiotic prescribing in primary care on antimicrobial resistance in individual patients: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 340, c2096.
- Danielle M. Tack, D., Ellyn P. Marder, M., Patricia M. Griffin, M., Paul R. Cieslak, M., John Dunn, 2019. Preliminary incidence and trends of infections with pathogens transmitted commonly through food — Foodborne diseases active surveillance network, 2015–2018. *Morbidity and Mortality Weekly Report* 68.
- Dellit, T., Owens, R.C., Jr., J.E.M., Gerding, D.N., Weinstein, R.A., Burke, J.P., Huskins, W.C., Paterson, D.L., Fishman, N.O., Carpenter, C.F., Brennan, P.J., Billeter, M., Hooton, T.M., 2007. Infectious diseases society of America and the society for healthcare epidemiology of america guidelines for developing an institutional program to enhance antimicrobial stewardship. *Antimicrobial Stewardship Guidelines* 44, 159-177.
- Ed-Dra, A., Filali, F.R., Bouymajane, A., Benhallam, F., El Allaoui, A., Chaiba, A., Giarratana, F., 2018. Antibiotic Susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolated from sausages in Meknes, Morocco. *Vet World* 11, 1459-1465.
- Ed-Dra, A., Rhazi Filali, F., El Allaoui, A. and Aboulkacem, A., 2017. Factors influencing the bacteriological quality of sausages sold in Meknes city, Morocco. *IFRJ* 24, 933-938.
- El Sherbiny, N.A., Ibrahim, E.H., Masoud, M., 2019. Assessment of knowledge, attitude and behavior towards antibiotic use in primary health care patients in Fayoum Governorate, Egypt. *Alexandria Journal of Medicine* 54, 535-540.
- Garedew, L., Hagos, Z., Addis, Z., Tesfaye, R., Zegeye, B., 2015. Prevalence and antimicrobial susceptibility patterns of *Salmonella* isolates in association with hygienic status from butcher shops in Gondar town, Ethiopia. *Antimicrob Resist Infect Control* 4, 21.
- Gounadaki, A.S., Skandamis, P.N., Drosinos, E.H., Nychas, G.J., 2008. Microbial ecology of food contact surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiol* 25, 313-323.
- Gualano, M.R., Gili, R., Scaioli, G., Bert, F., Siliquini, R., 2015. General population's knowledge and attitudes about antibiotics: a systematic review and meta-analysis. *Pharmacoepidemiol Drug Saf* 24, 2-10.
- Gutierrez, D., Delgado, S., Vazquez-Sanchez, D., Martinez, B., Cabo, M.L., Rodriguez, A., Herrera, J.J., Garcia, P., 2012. Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities on food industry surfaces. *Appl Environ Microbiol* 78, 8547-8554.
- Hachemi, A., Zenia, S., Denia, M.F., Guessoum, M., Hachemi, M.M., Ait-Oudhia, K., 2019. Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic

- 408 resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits
409 affecting foodborne poisoning. *Vet World* 12, 1240-1250.
- 410 Health-canada, 2010. Survey of Canadians' knowledge & behaviour related to food safety. EKOS
411 RESEARCH ASSOCIATES INC. POR Number: 070-09.
- 412 Hernández-Cortez, C., Palma-Martínez, I., Gonzalez-Avila, L.U., Guerrero-Mandujano, A.,
413 Solís, R.C., Castro-Escarpulli, G., 2017. Food Poisoning Caused by Bacteria (Food Toxins).
- 414 Iturriza-Gomara, M., O'Brien, S.J., 2016. Foodborne viral infections. *Curr Opin Infect Dis* 29,
415 495-501.
- 416 Kaae, S., Ghazaryan, L., Pagava, K., Korinteli, I., Makalkina, L., Zhetimkarinova, G.,
417 Ikhambayeva, A., Tentiuc, E., Ratchina, S., Zakharenkova, P., Yusufi, S., Maqsudova, N.,
418 Druedahl, L., Sporrang, S.K., Cantarero, L.A., Norgaard, L.S., 2019. The antibiotic knowledge,
419 attitudes and behaviors of patients, doctors and pharmacists in the WHO Eastern European
420 region - a qualitative, comparative analysis of the culture of antibiotic use in Armenia, Georgia,
421 Kazakhstan, Moldova, Russia and Tajikistan. *Res Social Adm Pharm*.
- 422 Kassahun, M., Wongiel, S., 2019. Food poisoning outbreak investigation in Dewachefa woreda,
423 Oromia Zone, Amhara Region, Ethiopia, 2018. *BMC Res Notes* 12, 377.
- 424 Khanal, G., Poudel, S., 2017. Factors Associated With Meat Safety Knowledge and Practices
425 Among Butchers of Ratnanagar Municipality, Chitwan, Nepal: A Cross-sectional Study. *Asia
426 Pac J Public Health* 29, 683-691.
- 427 Liu, C., Wang, D., Deng, Z., Tang, Y., Zhang, X., 2019a. Determinants of antibiotic prescribing
428 behaviors of primary care physicians in Hubei of China: a structural equation model based on the
429 theory of planned behavior. *Antimicrob Resist Infect Control* 8, 23.
- 430 Liu, C., Wang, D., Zhang, X., 2019b. Knowledge, Attitudes and Intentions to Prescribe
431 Antibiotics: A Structural Equation Modeling Study of Primary Care Institutions in Hubei, China.
432 *Int J Environ Res Public Health* 16.
- 433 Murray, R., Glass-Kaasta, S., Gardhouse, C., Marshall, B., Ciampa, N., Franklin, K., Hurst, M.,
434 Thomas, M.K., Nesbitt, A., 2017. Canadian Consumer Food Safety Practices and Knowledge:
435 Foodbook Study. *J Food Prot* 80, 1711-1718.
- 436 O'Neil, 2014. Review on antimicrobial resistance. *Antimicrobial*
437 *resistance: tackling a crisis for the health and wealth of nations.*
438 2014.
- 439 Odeyemi, O.A., 2016. Antibiotic resistance and burden of foodborne diseases in developing
440 countries. *Future Science*; 2, 4.

- 441 Radulescu, V., Cetina, I., 2011. The impact of health care consumer education on marketing
442 strategies of health services organization. *Procedia - Social and Behavioral Sciences* 15, 388-
443 393.
- 444 Rajesh, K., 2006. Assessment of awareness and hygienic practices among poultry butchers in
445 Patna city, Bihar. In, *City*.
- 446 Rozin, P., Hormes, J.M., Faith, M.S., Wansink, B., 2012. Is Meat Male? A Quantitative
447 Multimethod Framework to Establish Metaphoric Relationships. *Journal of Consumer Research*
448 39, 629-643.
- 449 Saengcharoen, Woranuch, ;, L.S., Kanchana, K., 2012. Knowledge, attitudes, and behaviors
450 regarding antibiotic use for upper respiratory tract infections: a survey of thai students. *Southeast*
451 *Asian J Trop Med Public Health* 43, 12.
- 452 Sergelidis, D., Angelidis, A.S., 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a
453 controversial food-borne pathogen. *Lett Appl Microbiol* 64, 409-418.
- 454 Simon, S.S., Sanjeev, S., 2007. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery
455 products and fish processing factory workers. *Food Control* 18, 1565-1568.
- 456 Somura, Y., Nagano, M., Kimoto, K., Oda, M., Mori, K., Shinkai, T., Sadamasu, K., 2019.
457 Detection of norovirus in food samples collected during suspected food-handler-involved
458 foodborne outbreaks in Tokyo. *Lett Appl Microbiol* 69, 175-180.
- 459 Sutthiruk, N., Considine, J., Hutchinson, A., Driscoll, A., Malathum, K., Botti, M., 2018. A
460 survey of reported behaviours, attitudes and knowledge related to antibiotic use of hospitalised
461 patients in Thailand. *Infection, Disease & Health* 23, 203-210.
- 462 Teixeira Rodrigues, A., Roque, F., Falcao, A., Figueiras, A., Herdeiro, M.T., 2013.
463 Understanding physician antibiotic prescribing behaviour: a systematic review of qualitative
464 studies. *Int J Antimicrob Agents* 41, 203-212.
- 465 United-Nations, 2019. *World Population Prospects Highlights*. Department of Economic and
466 Social Affairs, 46.
- 467 Vaananen, M.H., Pietila, K., Airaksinen, M., 2006. Self-medication with antibiotics--does it
468 really happen in Europe? *Health Policy* 77, 166-171.
- 469 WHO, 2015. *Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases*. In, News release. World
470 Health Organization, City.
- 471 Wutzke, S.E., Artist, M.A., Kehoe, L.A., Fletcher, M., Mackson, J.M., Weekes, L.M., 2007.
472 Evaluation of a national programme to reduce inappropriate use of antibiotics for upper
473 respiratory tract infections: effects on consumer awareness, beliefs, attitudes and behaviour in
474 Australia. *Health Promot Int* 22, 53-64.

475 You, J.H., Yau, B., Choi, K.C., Chau, C.T., Huang, Q.R., Lee, S.S., 2008. Public knowledge,
476 attitudes and behavior on antibiotic use: a telephone survey in Hong Kong. *Infection* 36, 153-
477 157.

478

Caractérisation moléculaire, diversité bactérienne et facteurs de virulence des Staphylococci spp. isolées depuis les saucisses crues de type « Merguez » en Algérie.

Article. 3

Diversity and molecular characterization of Staphylococcus spp., isolates from raw sausages « Merguez », harboring pvl, tsst-1, mecA, and enterotoxins genes (sea, seb, sec, sed, see, seg, seh) in Algeria.

A. HACHEMI, K. AIT-LOUDHIA, S. ZENIA, M-M. HACHEMI and J-M ROLAIN.

« Submitted Article »

Avant-propos

Article 3.

Diversité et caractérisation moléculaire de *Staphylococcus* spp. isolés des saucisses crues, hébergeant les gènes *pvl*, *tsst-1*, *mecA* et entérotoxines (*sea*, *seb*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*) en Algérie.

Des études épidémiologiques relatives aux intoxications alimentaires ont montré que les toxines produites par certaines souches de staphylocoques, principalement par *Staphylococcus aureus*, sont la deuxième cause après les cinq principaux agents pathogènes d'origine alimentaire (*Salmonella*, *Norovirus*, *Campylobacter* spp., *Toxoplasma gondii* et *Escherichia coli* O157 (STEC)) (Sergelidis et Angelidis, 2017); (Liao et al., 2018). Jusqu'à présent, ce genre a été décrit avec plus de 70 espèces et sous-espèces (Ouoba et al., 2019). *Staphylococcus argenteus* ainsi que *Staphylococcus schweitzeri* forment une nouvelle partie du complexe de *S. aureus* avec un potentiel entérotoxigénique (Jiang et al., 2018); (Wakabayashi et al., 2018) et semble être associés à des infections, mais aucun cas de toxoinfection alimentaire n'a été signalé à ce jour (Suzuki et al., 2017). Il s'agit d'une maladie qui résulte de la consommation d'aliments contenant des quantités suffisantes d'une ou de plusieurs toxines préformées (Fijalkowski et al., 2016) capables de provoquer des épidémies rapides de maladie en 30 minutes à 8 heures pendant environ 24 heures (Ouoba et al., 2019). Par conséquent, l'ingestion de 20 ng à 1 µg d'entérotoxines staphylococciques (SEs) peut provoquer des symptômes comme des nausées, des vomissements sévères, des crampes abdominales, des maux de tête et de la diarrhée avec une hospitalisation pouvant évoluer vers la mort chez les groupes vulnérables (nourrissons, personnes âgées, patients affaiblis et personnes atteintes de maladies concomitantes) (Wang et al., 2017). Pour le nombre de cellules bactériennes nécessaires pour produire des niveaux détectables d'entérotoxines; certaines études suggèrent généralement 10^5 à 10^6 UFC par g ou mL de *S. aureus* dans la nourriture (Walker-York-Moore et al., 2017).

À ce jour, la capacité pathogène de *Staphylococcus aureus* est liée à divers facteurs de virulence qui peuvent exacerber l'issue clinique des infections à staphylocoques (Benito et al., 2015). Elle est attribuée à la combinaison de propriétés invasives, à la production de facteurs extracellulaires et des gènes de résistance aux antibiotiques. Ainsi, *S. aureus* dispose d'une grande variété de facteurs de virulence, y compris différents groupes de toxines (Benito et al., 2014), comme la leucocidine de Panton-Valentine (*pvl*) qui est une toxine membranaire staphylococcique à deux composants qui cible les leucocytes (Pu et al., 2010); les toxines staphylococciques incluent également la toxine 1 du syndrome de choc toxique (*tsst-1*), les toxines exfoliatives (ETA à ETD), les entérotoxines staphylococciques (SEs) avec une activité émétique démontrée et les protéines de type entérotoxine staphylococcique (SEI) (Chairat et al., 2015), allèles régulateurs génétiques accessoires (*agr*) (Basanisi et al., 2016).

Toutes les toxines énumérées ci-dessus possèdent une activité superantigénique et ont été désignées comme superantigènes staphylococciques (SAGs) (Fijalkowski et *al.*, 2016). Généralement, ce sont des protéines staphylococciques de type entérotoxine nommées (SEIs) et cinq entérotoxines classiques connues sous le nom de types SE (*sea* à *see*) codées par les gènes SE (Roussel et *al.*, 2015). Le *sea* et le *sed* seraient les deux SE prédominants impliqués dans les cas de maladies d'origine alimentaire, suivis du *seb* (Velasco et *al.*, 2018). L'entérotoxine *seh* est la seule entérotoxine non classique qui a également été impliquée dans des foyers de toxi-infections alimentaires (Walker-York-Moore et *al.*, 2017). De nombreux gènes SE sont encodés sur des éléments génétiques mobiles (MGEs): phages, plasmides, îles de pathogénicité de *Staphylococcus aureus* (SaPI) et îles génomiques portant le cluster de gènes d'entérotoxine (*egc*) (Wakabayashi et *al.*, 2018). Les éléments génétiques mobiles peuvent se propager par transfert horizontal de gènes entre les espèces de *Staphylococcus*, ce qui entraîne une diffusion des SE non seulement chez *S. aureus* mais aussi d'autres staphylocoques (Wakabayashi et *al.*, 2018).

En termes de menace pour la santé publique, récemment dans les épisodes de toxi-infections alimentaires, le potentiel entérotoxino-gène d'espèces de staphylocoques à coagulase positive et négative a été de plus en plus reconnu dans les enquêtes épidémiologiques (Ouoba et *al.*, 2019). Cependant, la pathogénie staphylococcique n'est pas seulement responsable d'une grande variété de maladies animales et humaines (Mama et *al.*, 2019) mais peut également servir de réservoir de gènes de résistance (Fijalkowski et *al.*, 2016), favorisant le transfert de ces déterminants depuis les bactéries non pathogènes aux bactéries pathogènes et opportunistes (Martins et *al.*, 2013). La nourriture représente un véhicule important pour le transfert de la résistance aux antimicrobiens en raison de l'utilisation excessive et incontrôlée d'antibiotiques chez les animaux (Can et *al.*, 2017). Par conséquent, de nombreuses émergentes et réémergentes bactéries résistantes aux antibiotiques sont devenues la nouvelle crainte mondiale (Abat et *al.*, 2018).

Récemment, l'isolement de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) de sources non humaines, y compris des denrées alimentaires et des animaux, a été rapporté avec une tendance croissante (Kwon et *al.*, 2006). Un réel potentiel pour un « échange zoonotique bidirectionnel » entre les humains et les animaux (Campbell et *al.*, 2014). Les pays méditerranéens, plus particulièrement l'Algérie, sont susceptibles de représenter une région hyperendémique pour les SARM avec une augmentation spectaculaire parmi la communauté et le corps de santé (Chaalal et *al.*, 2018). Pour le continent Américain, chaque année aux États-Unis, les souches de *S. aureus* résistantes à la méthicilline sont responsables d'environ 100 000 cas d'infections avec un taux de mortalité d'environ 20% (Safarpour Dehkordi et *al.*, 2017). Une situation qui entraîne une augmentation de la mortalité, de la morbidité et des pertes économiques, principalement en raison de la durée des séjours à l'hôpital; avec un lourd fardeau pour la santé publique dans le monde (Zhang et *al.*, 2018); (Lakhundi et Zhang, 2018) malgré le fait qu'il n'est pas possible de prédire l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques selon Abat et *al.* (2018).

Des gènes de résistance chez *S. aureus* peuvent être soit dans l'ADN chromosomique soit dans l'ADN plasmidique. La résistance à la pénicilline est plasmidique et se propage donc très rapidement à plusieurs autres souches.

Il est peu probable que la résistance à la méthicilline est chromosomique, et donc sa diffusion est plus lente mais maintien sa progression (Pesavento et al., 2007). Chez les bactéries Gram-positives, cette résistance à la méthicilline est due à la production d'une autre protéine de liaison à la pénicilline (PBP2a) codée par le gène *mecA*, *mecB*, *mecC* ou *mecD* (Schwendener et Perreten, 2018). Chez *Staphylococcus*, les gènes *mecA* et *mecC* se trouvent sur une classe unique d'éléments génétiques mobiles, désignée par le chromosome *mec* de la cassette de *staphylococcus* (*SCCmec*) (Shore et Coleman, 2013). Par conséquent, des souches de staphylocoques résistantes à la méthicilline sont apparues en raison de l'acquisition de ces éléments génétiques mobiles (Lakhundi et Zhang, 2018). En 2017, et pour la première fois, le gène *mecB* et *mecD* a été détecté chez *M. caseolyticus* (une bactérie catalase et oxydase positive apparentée au genre *Staphylococcus*) sur différentes îles génomiques appelées l'île de résistance de *M. caseolyticus* (Schwendener et al., 2019), mais on en sait relativement peu sur l'épidémiologie des macrocoques (MacFadyen et al., 2018).

Plusieurs approches d'identification bactérienne et moléculaire ont été adoptées. Pour l'identification bactérienne de routine, une technique révolutionnaire, appelée la spectrométrie de masse MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight*), est une technologie rapide, peu coûteuse et précise (Seng et al., 2009) avec une efficacité élevée (99,1%) (Biswas et Rolain, 2013). La première identification de *Staphylococcus* spp. était en 2007 (Seng et al., 2010). Concernant la caractérisation moléculaire, de nombreux tests de PCR ont été développés pour détecter les gènes SE dans des souches isolées d'aliments contaminés (Roussel et al., 2015). Les tests de réaction en chaîne par polymérase (PCR) se sont révélés efficaces et fiables car l'ADN reste intact après chauffage (Gholamzad et al., 2015). Les méthodes basées sur la PCR deviennent ainsi sensibles et spécifiques, qui peuvent détecter des bactéries productrices d'entérotoxines avant leur production.

Depuis lors, *S. aureus* et le SARM ont été découverts chez des animaux producteurs d'aliments et de la viande vendue au détail, ce qui accroît les inquiétudes concernant l'exposition des humains à travers la chaîne alimentaire. Le plus souvent de la viande et des produits carnés; ont été impliqués dans des incidents de toxi-infections alimentaires attribués à *S. aureus*. (Ananou et al., 2005) (Normanno et al., 2007) (Jackson et al., 2013b). De nombreuses recherches d'actualité ont été menées pour enquêter sur la présence de *S. aureus* dans différents types de viandes (Velasco et al., 2018); (Kim et al., 2018); (Jansen et al., 2018); (Thapaliya et al., 2017); (Shawish et Al-Humam, 2016); (Sergelidis et al., 2015). Les aliments peuvent transférer très efficacement les bactéries résistantes aux antibiotiques dans le tractus intestinal des consommateurs. C'est exactement dans l'intestin que peut se produire le transfert de gènes de résistance entre des bactéries non pathogènes et des bactéries pathogènes ou opportunistes (Pesavento et al., 2007).

Dans notre étude, la saucisse est la denrée à laquelle nous nous intéressons; nommée «Merguez». Il s'agit de la variété de produits à base de viande la plus populaire en Algérie. Les recherches antérieures sur la sécurité sanitaire des aliments étaient axées sur la caractérisation de *S. aureus* et du SARM.

Cependant, malgré l'émergence des Staphylocoques coagulase négative dans différents aliments; le manque de données concernant le potentiel pathogène et les profils de résistance aux antimicrobiens de *S. aureus* et des espèces de *Staphylococcus* non-aureus justifie davantage d'études pour renforcer la nécessité de revoir leur importance pour la sécurité sanitaire des aliments et d'établir s'il existe ou non des relations de risques.

Au meilleur de nos connaissances, le présent article est la première tentative concernant la caractérisation moléculaire détaillée, la résistance aux antimicrobiens et la diversité des isolats de souches de *Staphylococci* et *Macrococcus* de Merguez en Algérie; en effet jusqu'à présent, aucune caractérisation moléculaire ni pour *S aureus* ni pour l'étude des facteurs de virulence dans souches de staphylocoques ont été réalisés dans des isolats de Merguez. Par conséquent, les objectifs de la présente étude étaient (i) d'estimer la distribution de la prévalence dans les différentes municipalités Algériennes pour la diversité de *Staphylococcus* spp; et les SARM (*mecA / mecC*) présents dans la saucisse crue «Merguez», (ii) pour déterminer la présence de gènes de toxines: entérotoxine staphylococcique classique (*sea, seb, sec, sed, see et seg*), gène d'entérotoxine non classique (*seh*) et les gènes d'exotoxines: le gène de la toxine du syndrome de choc (*tsst-1*) et la leucocidine de Panton-Valentine (*pvl*) au sein de Staphylocoques entérotoxinogènes et *Macrococcus caseolyticus*. De plus, (iii) évaluer certains facteurs de virulence phénotypiques ainsi que les profils de résistance aux antimicrobiens des isolats de *Staphylococcus*

Diversity and molecular characterization of *Staphylococcus* spp. isolates from raw sausages « Merguez »; harboring *pvl*, *tsst-1*, *mecA*, and enterotoxins genes (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*) in Algiers, Algeria.

Authors:

Amina HACHEMI¹, Khatima AIT-LOUDHIA¹, Safia ZENIA¹ and Jean-Marc ROLAIN²

¹ Laboratoire d'Hygiène des Denrées Alimentaires d'Origine Animale « H.I.D.A.O.A », département clinique. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Alger, Algérie.

² Unité de recherche sur les maladies infectieuses et tropicales émergentes (URMITE), UM 63, CNRS 7278, IRD 198, INSERM 1095, IHU Méditerranée Infection, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Aix-Marseille-Université, Marseille, France.

Conflict of interests

The authors declare that they have no competing interests.

Corresponding authors:

Jean-Marc ROLAIN

Amina HACHEMI

ABSTRACT

The emergence and re-emergence of antibiotic multi-resistant foodborne bacteria are one of the most important source of concern worldwide. Recently, *Staphylococci* spp. and *Macrococcus caseolyticus* have received increasing attention due to their possible potential of enterotoxigenicity and dissemination of resistance genes found on mobile genetic elements. The present study aimed to investigate the diversity of strains using MALDI-TOF MS and their antimicrobial susceptibility profil. Secondly, to detect virulence factors as *mecA/mecC* genes, *pvl* and *tsst-1* genes also, enterotoxigenicity of all strains isolated from raw sausages in Algeria.

Of a total of 84 strains included in this study, 73 (86.90%) strains were identified *Staphylococci* spp. including *S. saprophyticus* (32.87%), *S. aureus* (28.76%), *S. sciuri* (10.95%), *S. xylosus* (8.21%), *S. gallinarum* (5.47%), *S. vitulinus* (4.10%), and *S. equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, with 2.73% followed by *S. warneri* (1.36%). The rest represented *Macrococcus caseolyticus* with 13.09% (n=11/84). The MSP dendrogram revealed 4 distinct clusters according to an arbitrary cut-off at the distance level of 500. All *S. aureus* strains were severely resistant against β -Lactamines (93.65%). For *S. saprophyticus*, fusidic acid (62.50%) and doxymycin (70.83%) were the most resistance recorded. Thus, *M. caseolyticus* strains were revealed resistance profile against cefoxitin/erythromycin (63.63%), and clindamycin/tetracyclines (54.54%). There was no resistance to vancomycin. We have detected *mecA* gene in 5 methicillin-resistant strains confirmed by PCR, with prevalence of 23.80%. Overall, 66.67% of *S. aureus* isolates were positive for at least one of seven enterotoxins genes identified and 19.05% harboured two to four enterotoxin genes. The predominant ones were *seb* (38.09%); followed by *sea*, *see*, *seg*, *she* with (14.28%), and *sed* with (9.52%). No isolates harboured enterotoxin genes *sec* were enregistred. More, a combination of *sea* and *see* genes was recorded with 14.28% among strains isolates.

This study demonstrated that *S. aureus* and *Macrococcus caseolyticus* isolates found in Algiers raw sausage had enterotoxin genes with predominance of *seb* and *see*, respectively and demonsrate that not only *S. aureus* but also *S. haemolyticus*, *S. sciuri* and *M. caseolyticus* were considred like potential hazard for consumers. The prevalence of MRSA among the raw sausage tested emphasizes the role of the human and food animal as reservoirs of bacterial resistance, driving us to study the contamination of raw sausage from farm to fork. Hence, The risk of transmission of *Staphylococci*, *Macrococcus caseolyticus* and MRSA strains carying different antimicrobial resistance and virulence genes in raw sausage chain, represents a potential threat for the spread of these pathogens in the community and should be regarded.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, *Macrococcus caseolyticus*, raw sausage, *mecA*, *SEs*, *tsst-1*, *pvl*, Algeria.

INTRODUCTION

Epidemiological food poisoning has shown that toxins produced by certain *Staphylococci* strains, mainly by *Staphylococcus aureus* are the second cause after the top five foodborne pathogens (*Salmonella*, Norovirus, *Campylobacter* spp., *Toxoplasma gondii* and *Escherichia coli* O157 (STEC)) (Sergelidis and Angelidis, 2017) ; (Liao et al., 2018). So far, this genus have been described with more than 70 species and subspecies (Ouoba et al., 2019). *Staphylococcus argenteus* as well as *Staphylococcus schweitzeri* form a new part of *S. aureus* complex with enterotoxigenic potential (Jiang et al., 2018) ; (Wakabayashi et al., 2018) and appears to have association with infections but no cases of food poisoning have been reported yet (Suzuki et al., 2017). It's about an illness that results from the consumption of foods containing sufficient amounts of one (or more) preformed toxins (Fijalkowski et al., 2016) capable of causing fast outbreaks disease within 30 min to 8 hours lasting for about 24 hours (Ouoba et al., 2019). Therefore, ingesting from 20 ng to 1 µg SEs can cause symptoms like nausea, severe vomiting, abdominal cramps, headache, and diarrhea with possible hospitalization that evolves to death among susceptible groups (Infants, the elderly, debilitated patients and persons who have concomitant illnesses) (Wang et al., 2017). For the number of bacterial cells required to produce detectable levels of enterotoxin; some studies suggest generally 10^5 – 10^6 CFU per g or mL of *S. aureus* in food (Walker-York-Moore et al., 2017).

To day, the pathogenic capacity of *Staphylococcus aureus* is related to various virulence factors that can exacerbate the clinical outcome of staphylococcal infections (Benito et al., 2015). It's attributed to a combination of invasive properties, production of extracellular factors and antibiotic genes resistance. Thus, *S. aureus* disposes a large variety of virulence factors, including different toxin groups (Benito et al., 2014), such as the Pantone-Valentine leukocidin (*pvl*) which is a two-component staphylococcal membrane toxin that targets leukocytes (Pu et al., 2010) ; also, staphylococcal toxins include toxic shock syndrome toxin 1 (*tsst-1*), exfoliative toxins (*eta* to *etd*), staphylococcal enterotoxins (SEs) with demonstrated emetic activity, and staphylococcal enterotoxin-like (SEI) proteins (Chairat et al., 2015), accessory gene regulator alleles (*agr*) (Basanisi et al., 2016). All the toxins listed above possess superantigenic activity and were designated as staphylococcal superantigens (SAGs) (Fijalkowski et al., 2016). Generally, their are staphylococcal enterotoxin-like proteins named (SEIs) and five classical enterotoxins known as SE types (*sea* to *see*) encoded by the SE genes (Roussel et al., 2015). *sea* and *sed* were reported to be the two predominant SEs implicated in foodborne illness cases, followed by *seb* (Velasco et al., 2018).

91 The enterotoxin *seh* is the only non-classical enterotoxin that has also been implicated in causing
92 disease outbreaks (Walker-York-Moore et al., 2017). Many SE genes are encoded on mobile
93 genetic elements (MGEs) : Phages, plasmids, *Staphylococcus aureus* pathogenicity islands
94 (SaPIs), and genomic islands carrying the enterotoxin gene cluster (*egc*) (Wakabayashi et al.,
95 2018). Mobile genetic elements can be spread by horizontal gene transfer among *Staphylococcus*
96 species, resulting in diffusion of SEs among not only *S. aureus* but also other staphylococci
97 (Wakabayashi et al., 2018).

98 In terms of public health threat, recently, the enterotoxigenic potential of either positive and
99 negative coagulase staphylococci species in food poisoning has been recognized in
100 epidemiological investigations (Ouoba et al., 2019). However, the pathogenicity's staphylococci
101 are not only responsible for a wide variety of diseases of animals and humans (Mama et al.,
102 2019) but also can serve as a reservoir of resistance genes (Fijalkowski et al., 2016), favoring the
103 transference of such determinants from non pathogenic to pathogenic and opportunist bacteria
104 (Martins et al., 2013). Food represents an important vehicle for transfer of antimicrobial
105 resistance because of the excessive and uncontrolled use of antibiotics for animals (Can et al.,
106 2017). Hence, many emergence and re-emergence antibiotic resistant bacteria has become the
107 new worldwide fear (Abat et al., 2018).

108 Recently, the isolation of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) from non-human
109 sources including foodstuff and animals has been reported with an increased tendency (Kwon et
110 al., 2006). A real potential for a “bidirectional zoonotic exchange” between humans and
111 livestock (Campbell et al., 2014). Mediterranean countries, more specially Algeria, are likely to
112 represent a hyperendemic region for MRSA with spectacular increase in the community and
113 healthcare settings (Chaalal et al., 2018). For American continent, each year in the United States,
114 methicillin-resistant *S. aureus* strains are responsible for about 100,000 cases of infections with
115 around 20% mortality rate (Safarpour Dehkordi et al., 2017). A situation that lead to higher
116 mortality, morbidity and economic loss, mainly due to lengths of hospital stays ; which have
117 brought a heavy burden on public health around the world (Zhang et al., 2018) ; (Lakhundi and
118 Zhang, 2018) despite the fact that it is not possible to predict antibiotic resistance epidemiology
119 according to (Abat et al., 2018). These genes expressing antibiotic resistance in *S. aureus* can be
120 either in chromosomal or in plasmidic DNA. Penicillin resistance is plasmidic, and therefore it
121 spread out very quickly to several other strains. Unlikely, methicillin-resistance is chromosomal,
122 and therefore its diffusion is slower than the former, but it keeps going (Pesavento et al., 2007).

123 This methicillin resistance in Gram-positive bacteria is due to the production of an alternative
 124 penicillin-binding protein (PBP2a) encoded by either the *mecA*, *mecB*, *mecC* or *mecD* gene
 125 (Schwendener and Perreten, 2018). In *Staphylococcus*, the *mecA*, and *mecC* genes are found on a
 126 unique class of mobile genetic elements, designated the staphylococcus cassette chromosome
 127 *mec* (*SCCmec*) (Shore and Coleman, 2013). Hence, methicillin resistant strains of *Staphylococci*
 128 appeared due to the acquisition of these mobile genetic elements (Lakhundi and Zhang, 2018). In
 129 2017, and for the first time, the *mecB* and *mecD* gene was detected in *M. caseolyticus* (a
 130 catalase- and oxidase-positive bacterium related to the genus *Staphylococcus*) on different
 131 genomic islands named the *M. caseolyticus* resistance island (Schwendener et al., 2019), but,
 132 relatively little is known about the epidemiology of *Macrococci* (MacFadyen et al., 2018).

133 Several approaches for bacterial and molecular identification were adopted. For routine bacterial
 134 identification, the revolutionary one, named Matrix-assisted laser desorption ionization time-of-
 135 flight (MALDI-TOF) mass spectrometry, is a fast, inexpensive, and accurate technology (Seng et
 136 al., 2009) with a high effective (99.1%) (Biswas and Rolain, 2013). The first identification for
 137 *Staphylococcus* spp. was in 2007 (Seng et al., 2010). Concerning the molecular characterization,
 138 many PCR assays have been developed to detect SE genes in strains isolated from contaminated
 139 foods (Roussel et al., 2015) polymerase chain reaction (PCR) assays were reported to be efficient
 140 and reliable because the DNA remains intact after heating, PCR-based methods are able to detect
 141 genes (Gholamzad et al., 2015) and becomes a sensitive and specific method, which can detect
 142 enterotoxin-producing bacteria before their production. Since *S. aureus* and MRSA have been
 143 found in food-producing animals and retail meat, increasing the concern about the exposure for
 144 humans through the food chain. Most frequently meat and meat products ; have been implicated
 145 in food poisoning incidents attributed to *S. aureus*. (Ananou et al., 2005) (Normanno et al., 2007)
 146 (Jackson et al., 2013). Many topical researches have been conducted to investigate the presence
 147 of *S. aureus* in different kind of meats as (Velasco et al., 2018) ; (Kim et al., 2018) ; (Jansen et
 148 al., 2018) ; (Thapaliya et al., 2017) ; (Shawish and Al-Humam, 2016) ; (Sergelidis et al., 2015).
 149 Food may transfer antibiotic-resistant bacteria to the intestinal tract of consumers very
 150 efficiently. It is exactly in the intestine that can occur the transfer of resistance genes between
 151 non-pathogenic bacteria and pathogenic or opportunist bacteria. (Pesavento et al., 2007). In our
 152 study, raw sausage is the commodity we are interested in ; named « Merguez ». It is about the most
 153 popular variety of meat products in Algeria. Previous food safety research were focused on the
 154 characterization of *S. aureus* and MRSA. However, in spite of the emergence of CNS in different
 155 foods ; lack of data regarding the pathogenic potential and antimicrobial resistance profiles of *S.*

156 *aureus* and also NSA (Non-*S. aureus*) species warrants more studies to reinforce the need to
 157 revise their importance to food safety and to establish whether or not relation safety hazards
 158 exist.

159 To the best of our knowledge, the present paper is the first attempt regarding the detailed
 160 molecular characterization, antimicrobial resistance and diversity of *Staphylococci* and
 161 *Macrococcus* strains isolates from Merguez in Algeria ; in fact that; Merguez has not been the
 162 subject of a molecular characterization neither for *S aureus* nor an object of virulence's factors
 163 study in Staphylococcal strains until today. Therefore, the aims of the present study were (i) to
 164 estimate the prevalence distribution within different Algeria's municipalities of *Staphylococcus*
 165 *spp* diversity ; and MRSA (*mecA/mecC*) present in raw sausage « Merguez », (ii) to determine
 166 the presence of toxins genes : Classical staphylococcal enterotoxin (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see* and
 167 *seg*), non classical enterotoxin gene (*seh*) and exotoxins genes : The shock syndrome toxin gene
 168 (*tsst-1*) and the Panton-Valentine leukocidin (*pvl*) in enterotoxigenic Staphylococcal and
 169 *Macrococcus caseolyticus*. Moreover, (iii) to evaluate some phenotypic virulence factors as well
 170 as antimicrobial resistance profiles of *Staphylococcus spp* isolates.

171 MATERIALS AND METHODS

172 Study area and design of sampling sites

173 Samples were collected from 10 main cities (with more than 40 municipalities) of Algiers,
 174 Algeria. The sampling process followed three areas ; **Area 1** (*Beraki, Hussein Dey, Bir Mourad*
 175 *Rais, El Harrach*), **Area 2** (*Cheraga, Bouzareah, Sidi M'hamed, Bab El Oued*), **Area 3** (*Rouiba,*
 176 *Dar El Beida, Birtouta, Zeralda, Draria*). Samples of the same butchery are taken once, but from
 177 different lots. We collected an average of eighteen samples (n=18) per city.

178 Sample collection and processing

179 Between Juin 2017 and November 2019, a total of 230 meat products (Algerian traditional raw
 180 sausage called «Merguez») were randomly collected from butcheries of 47 municipalities located
 181 in urban and peri-urban areas of Algiers, Algeria. All of these raw sausage have been made in
 182 non-industrial environment, characterized by smallscale batch production following a traditional
 183 method. Merguez samples were obtained aseptically from display cases and approximately 500 g
 184 of raw sausage were sent to the laboratory at 4°C for ≤ 2 h (Norme ISO/FDIS 17604). In no case
 185 should the sample be frozen. Direct contact with the sample is carried out under strict aseptic
 186 conditions. (ISO 7218, 2003).

187 **Bacteriological analysis**

188 **Isolation and identification of *Staphylococcus aureus***

189 Microbiological isolation and identification was performed according to techniques
 190 recommended by the International Organization for Standardization *EN ISO 6888 1-2 :1999*
 191 using Baird-Parker Agar with egg yolk-potassium tellurite emulsion plates (BP, Pasteur institute
 192 of Algiers) incubated at 37 °C for 24 to 48 h (Wang et al., 2017) without the pre-enrichment
 193 phase. Five presumptives *S. aureus* typical colonies were subcultured and identified by
 194 conventional methods (Gram staining, catalase test, mannitol fermentation and the ability to
 195 coagulate rabbit plasma) (Simon and Sanjeev, 2007) (Giacinti et al., 2017) followed by the
 196 agglutination test PASTOREX® (OXOID), a latex agglutination test to detect clumping factor,
 197 Protein A and some polysaccharides found in *S. aureus*. Secondly all strains were analysed using
 198 matrix-assisted laser desorption and ionization time-of-flight mass spectrometry MALDI TOF.
 199 (Chaalal et al., 2018), (Seng et al., 2009) (Pesavento et al., 2007).

200 **Antimicrobial susceptibility testing**

201 Confirmed strains were performed for susceptibility according to the standard disk diffusion
 202 method on Müller-Hinton agar against the following panel of 16 antimicrobial agents (SirScan,
 203 France): penicillinG (1UI), cefoxitin (30), oxacillin (1), vancomycin (30), teicoplanin (30),
 204 clindamycin (2), erythromycin (15), pristinamycin (15), gentamicin (10), ciprofloxacin (5),
 205 linezolid (30), fosfomycin (200), doxymycin (30), fusidic acid (10), rifampicin (30), and
 206 trimethoprim/sulfamethoxazole (1.25/23.75) (Charge in µg/disk). Minimum Inhibitory
 207 Concentrations were determined using E- test method (bioMerieux). (Giacinti et al., 2017). The
 208 strains were classified as resistant in accordance with EUCAST(2017) for all antibiotics tested,
 209 except for oxacillin and pristinamycin, which were evaluated according to the EUCAST (2013)
 210 and the doxymycin according to CASFM (2008).

211 **Detection of *methicillin-resistance genes (mecA/mecC)***

212 The presence of genes (*mecA*, and *mecC*) were tested for all *S. aureus* strains using real-time
 213 polymerase chain reaction (q-PCR). The strains were subjected to q-PCR protocol using primers
 214 pair and conditions as previously reported by (Li et al., 2015). The *mecA/mecC* were be
 215 confirmed by PCR analysis as described by (Gomez-Sanz et al., 2010) and (Garcia-Alvarez et
 216 al., 2011), respectively. (Murakami et al., 1991) (Aydin et al., 2010; Normanno et al., 2007;
 217 Rong et al., 2017) . Amplified products were analyzed using 1.5% agarose gel electrophoresis
 218 and visualized by staining with SYBR Safe DNA Stain gel. (Liu et al., 2017).

219 Detection of staphylococcal toxin genes

220 All isolates were tested by PCR analysis for the presence of 7 genes coding for classical
 221 staphylococcal enterotoxins (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *see*, *seg*, *seh*) as previously described by
 222 (Johnson et al., 1991) (Mehrotra et al., 2000) and (Omoe et al., 2002), Cited in (Rall et al., 2008).
 223 The genes encoding the toxic shock syndrome toxin gene (*tsst-1*), and Panton-Valentine leukocin
 224 gene (*pvl*) were screened by real time PCR using the primers and TaqMan probe as previously
 225 described by (Deurenberg et al., 2005; Francois et al., 2004)

226 Statistical analysis

227 Collected data was analyzed using IBM R Project software package (Version R-3.4.4.tar.gz).
 228 The Chi square (χ^2) test was used to assess any significant relationship between prevalence of
 229 MRSA and MRSSA strains, their antibiotic resistance pattern. Also, the prevalence of each *SE*
 230 gene profile among *S. aureus* isolates and to determine the difference in proportions of
 231 *Staphylococcus aureus* among different sources; and in phenotypic and genotypic profiles. P
 232 value of ≤ 0.05 were considered statistically significant.

233 RESULTS

234 The strains diversity

235 All the 84 strains isolated from raw sausage during our study, were identified by MALDI-TOF
 236 MS. The MSP dendrogram (Figure 1) revealed four (04) distinct clusters according to an
 237 arbitrary cut-off at the distance level of 500. Out of 84, 73 (86.90%) strains were identified as
 238 *Staphylococci* species including *S. saprophyticus* (n=24; 32.87%) as the most frequently isolated
 239 strains analysed, followed by *S. aureus* (n=21; 28.76%) the object of our study, *S. sciuri* (n=8;
 240 10.95%), *S. xylosus* (n=6; 8.21%), *S. vitulinus* (n=3; 4.10%), *S. gallinarum* (n=4; 5.47%) and *S.*
 241 *equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, with 2 strains (2.73%) and *S. warneri* (n=1; 1.36%). The
 242 rest represented *Micrococcus caseolyticus* strains (n=11; 13.09%).

243

As presented in table 1, the prevalence of *S. aureus* sausage contamination in our study was twenty-five percent (25%) of the total isolates, including 66.70% (n=14/84) strains isolated from the first area, 19.00% (n=4/29) strains isolated from the second area, and for the third area, 14,30% (n=3/5) strains were isolated. Samples taken for the three regions are homogenous, verified by the Chi-square homogeneity test and the number of strains isolated is significantly different between the three (03) areas, with $P > 0.05$.

MSP Dendrogram

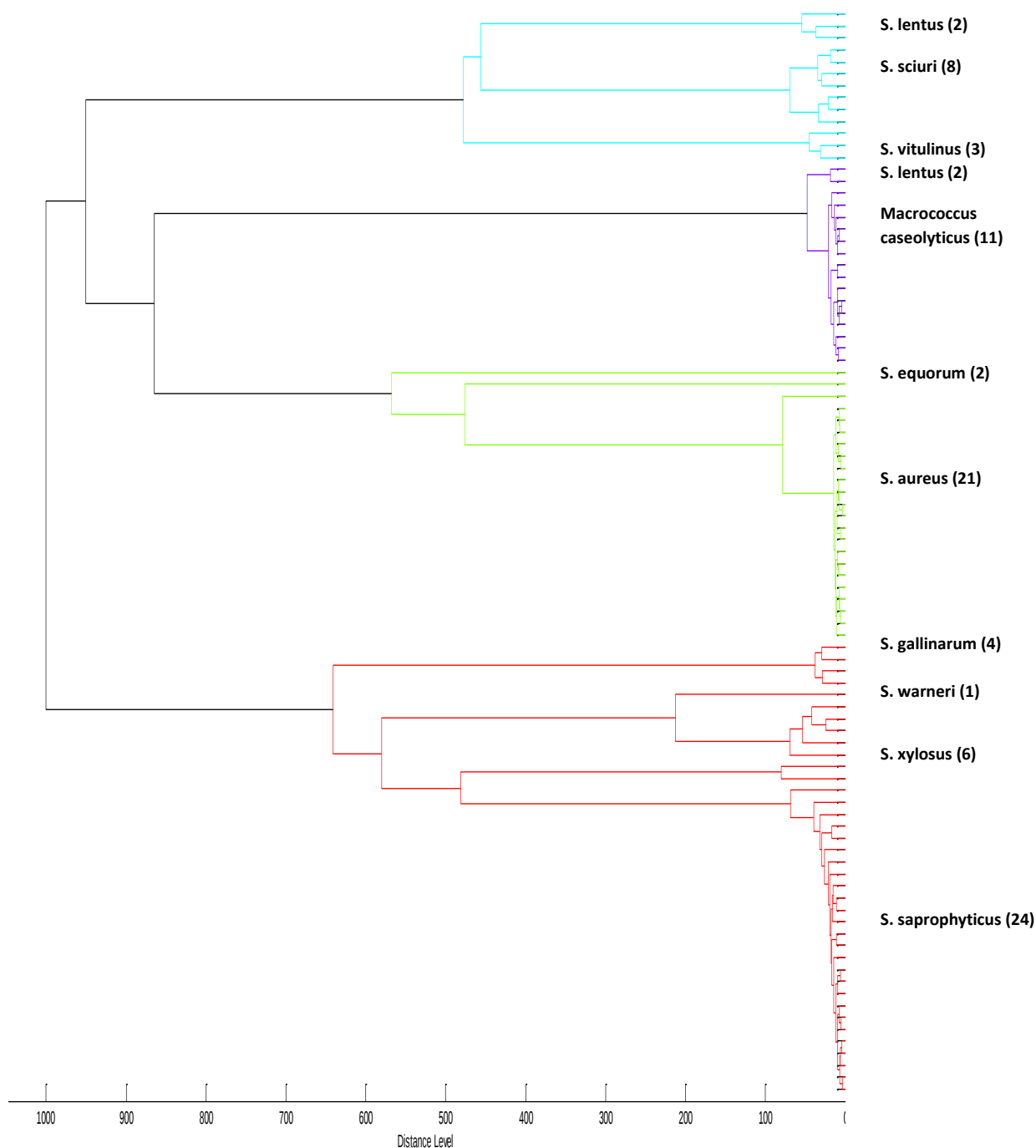


Figure 1. The MSP dendrogram MALDI TOF profiles of Staphylococci strains isolated from raw sausage

Antimicrobial resistance of isolates strains

The resistance percentages to all tested antibiotics for *Staphylococci* and *Micrococcus caseolyticus* are shown in Tableau 1, a and b. Among *Staphylococcus* spp. strains, out of the 21 *S. aureus* isolates, the results of antimicrobial resistance testing reported a high resistance of *S. aureus* strains to Beta-lactams (93,65%) with 90.48% (n=19/21) of resistance to penicillin, 95.24% to oxacillin (n=20/21) and 95.24% to ceftiofur (n=20/21), which are the most common antibiotic resistance profile from the three areas. In contrast, a very low resistance was found to Erythromycin, and Rifampicin with one resistant strain for each one. Also, there were 4 strains (19,05%) resistant to Fusidic acid, and 3 strains (14.29%) were resistant to Ciprofloxacin. All *S. aureus* strains isolated were resistant to at least one antibiotic class; 33.33% (n=7/21) of strains were resistant to two antibiotic class, and 19.04% (n=4) were resistant to three antibiotic class.

Table 1a. Antibiotic resistance of enterotoxigenic strains isolated from raw sausage in north of Algiers

Antibiotic class	Antibiotic	<i>S. aureus</i> , no. (%)		<i>S. Sciuri</i> , no. (%)		<i>S. haemolyticus</i> , no. (%)		<i>M. caseolyticus</i> , no. (%)	
B-Lactams	Penicillin G (P)	19	(90.48)	0	(0)	1	(50)	2	(18.18)
	Oxacillin (OXA)	20	(95.24)	6	(75.00)	0	(0)	2	(18.18)
	Ceftiofur (FOX)	20	(95.24)	3	(37.50)	0	(0)	7	(63.63)
Macrolides	Erythromycin (E)	1	(04.76)	2	(25.00)	0	(0)	7	(63.63)
	Pristinamycin (PT)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Quinolones	Ciprofloxacin (CIP)	3	(14.29)	5	(62.50)	0	(0)	5	(45.45)
Fusidic acid	Fusidic acid (FA)	4	(19.05)	7	(87.50)	0	(0)	1	(09.09)
Rifampicin	Rifampicin (RA)	1	(04.76)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Glycopeptides	Vancomycin (VA)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Teicoplanin (TEC)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	1	(09.09)
Lincosamides	Clindamycin (DA)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	6	(54.54)
Aminoglycosides	Gentamycin (CN)	0	(0)	1	(12.50)	0	(0)	1	(09.09)
Oxazolidinones	Linezolid (LNZ)	0	(0)	1	(12.50)	0	(0)	1	(09.09)
Fosfomycin	Fosfomycin (FF)	0	(0)	1	(12.50)	0	(0)	1	(09.09)
Tetracyclines	Doxymycin (DO)	10	(47.61)	0	(0)	0	(0)	6	(54.54)
Sulfonamides	Sulphamethoxazole/trimethoprim (SXT)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
ORT		21	(100.0)	0	(0)	1	(50)	3	(27.27)
TRT		7	(33.33)	5	(62.50)	0	(0)	5	(45.45)
ThRT		4	(19.04)	2	(25.00)	0	(0)	2	(18.18)

Concerning *Staphylococcus* Coagulase Negative strains (SCN) (58.14% ; n=52/73), our study revealed a high resistance to fusidic acid were exhibited among most strains. Further, all *S. saprophyticus* (n=24) showed resistance at least at one antibiotic class ; 45.83% of them were resistant to two antibiotic and 16.66% to multiresistant strains, with predominance of Fusidic acid resistance (62.50%); Beta-lactams (Oxacillin (25%), Cefoxitin (8.33%)), Erythromycin (16.66%) and Rifampicin (4.16%). Thus, 62.50% of *S. sciuri* strains were resistant to two antibiotic class, mainly linked to fusidic acid, oxacillin, and ciprofloxacin with 87.50%, 75% and 62.50%, respectively. The particularity of *S. xylosus* strains we fact that all of there were resistant to fusidic acid. The rest of *Staphylococci* isolates, *S. haemolyticus*, *S. equorum*, *S. vitillinus*, *S. lentus*, *S. warneri*, and *S. gallinarum* were susceptibles to antibiotics tested.

Table 1b. Antibiotic resistance of enterotoxigenic strains isolated from raw sausage in north of Algiers

Antibiotic class	Antibiotic	<i>S. saprophyticus</i> no. (%)		<i>S. equorum</i> no. (%)		<i>S. xylosus</i> no. (%)		<i>S. vitillinus</i> no. (%)		<i>S. lentus</i> no. (%)		<i>S. warneri</i> no. (%)		<i>S. gallinarum</i> no. (%)	
B-Lactams	Penicillin G (P)	0	(0)	1	(50)	1	(16.66)	1	(33.33)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Oxacillin (OXA)	6	(25.00)	2	(100)	1	(16.66)	2	(66.66)	1	(50)	1	(100)	0	(0)
	Cefoxitin (FOX)	2	(08.33)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Macrolides	Erythromycin (E)	4	(16.66)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Pristinamycin (PT)	0	(0)	1	(50)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Quinolones	Ciprofloxacin (CIP)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Fusidic acid	Fusidic acid (FA)	15	(62.50)	1	(50)	6	(100)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Rifampicin	Rifampicin (RA)	1	(04.16)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Glycopeptides	Vancomycin (VA)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
	Teicoplanin (TEC)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Lincosamides	Clindamycin (DA)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Aminoglycosides	Gentamycin (CN)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Oxazolidinones	Linezolid (LNZ)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Fosfomycin	Fosfomycin (FF)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Tetracyclines	Doxymycin (DO)	17	(70.83)	0	(0)	1	(16.66)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
Sulfonamides	Sulphamethoxazole (SXT)	0	(0)	0	(0)	1	(16.66)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
ORT		24	(100)	2	(100)	6	(100)	2	(66.66)	1	(50)	1	(100)	0	(0)
TRT		11	(45.83)	2	(100)	3	(50.00)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)
ThRT		4	(16.66)	2	(100)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)	0	(0)

ORT = Resistant to one antibiotic class
 TRT = Resistant to two antibiotic class
 ThRT =Resistant to three antibiotic class

Therefore, For *Macroccoccus caseolyticus* isolates, mainly resistance was linked to Beta-lactams, macrolides and tetracyclins. 63.63% (n=7) were resistant to cefoxitin/ erythromycin, followed by clindamycin/doxymycin with 54.54% (n=6); and ciprofloxacin with 45.45% (n=5). *Macroccoccus caseolyticus* strains tested were resistant to two antibiotic class with 45.45%, and 36.36% were multiresistants to three or more antibiotic class.

MRSA/MSSA occurrence and antibiotic profil

The distribution of MRSA in this study showed that all of them were isolated from the same area (Table 2.). Among first area strains, out of 14 *Staphylococcus aureus* isolated, five (05) were *mecA* with a rate of 35.71%; with a very significant value $P = 0.016$ (<0.05) compared to the other two areas; to note that samples taken for the three areas are homogeneous ; verified by χ^2 homogeneity test with $P > 0.05$. Also, the rest of strains, even belongs to area-2 and -3, were MSSA.

Tableau 2. Occurrence, genotypic profiles of *S. aureus* (MRSA/MSSA) identified in raw sausage

Cities (N=10)	No. Of strains	<i>S. aureus</i>		MSSA					MRSA				
		No. (%) of +		No. (%) Of +	PVL	TSST-1	SE gene (No. strain)		No. Of +	PVL	TSST-1	SE (N)	
Area 1	50	14 (66.70)		9/14 (42.86)	-	+	<i>sea, seb, sed, seg, see, seh</i> (8)		5/14 (35.71)	+	-	<i>sea, seb, see, seh</i> (6)	
Area 2	29	4 (19.00)		4/4 (19.05)	-	-	<i>seb</i> (3)		0 (0.00)	-	-	-	
Area 3	05	3 (14.30)		3/3 (14.29)	-	-	<i>seb sed seg</i> (4)		0 (0.00)	-	-	-	
Total	84	21 (25.00)		16/21 (76.20)	-	-			5/21 (23.80)	-	-	-	

+ = Positive ; MSSA = methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus* ; MRSA = methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ; *tsst-1*= Toxic-shock syndrome toxin ; *pvl* = Pantone-Valentine leukocidin ; N= Strains number; - = not detected

The five (5) isolates were harbored the *mecA* gene ; thus were confirmed Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with prevalence of 23.80% all belong to the Area 1 (Table 2.). Despite the absence of methicillin resistance among *Staphylococci* strains, also for *Macroccoccus caseolyticus*.

Of the 21, the remaining 16 isolates of *S. aureus* (76.20%) were Methicillin-Sensible *Staphylococcus aureus* (MSSA) carriers. The most virulent strains harboring *MecA*, hosts *pvl* gene. In contrast, the *tsst-1* gene has not been found among MRSA strains but those methicillin-sensitive from the same area.

Tableau 3. Phenotypic and genotypic characteristics of MRSA isolated from raw sausage

Strains (Réf.)	Site (s)*	<i>mecA</i>	SE(s)	<i>tsst-1</i>	<i>pvl</i>	Antibiotic class	Antimicrobial resistance**
MRSA 1 (14)	HUSSEIN DEY	+	<i>sed/seg</i>	-	-	ORT	P-OXA-FOX
MRSA 2 (24)	BIR MOURAD RAIS	+	<i>seh</i>	-	+	TRT	P-OXA-FOX-FA
MRSA 3 (28)	BIR MOURAD RAIS	+	-	-	-	ORT	P-OXA-FOX
MRSA 4 (60)	BERAKI	+	<i>seb</i>	-	-	TRT	P-OXA-FOX-CIP
MRSA 5 (61)	BERAKI	+	<i>sea/ seb/ see /seh</i>	-	-	ThRT	P-OXA-FOX-CIP-FA

ORT= resistance to one antibiotic class ; TRT= resistance to two antibiotic class, ThRT = resistance to three antibiotic class

*Area-1 ** Multiresistant MRSA (resistance to three or more antibiotics)

MRSA= Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ; SE(s) = staphylococcal enterotoxins. *tsst-1*= Toxic-shock syndrome toxin ; *pvl* = Pantone-Valentine leukocidin. Antimicrobial abbreviations are as following : P= penicillin ; OXA= oxacillin ; FOX= cefoxitin ; VA= Vancomycin ; TEC= Teicoplanin ; DA= Clindamycin ; E= Erythromycin ; PT= Pristinamycin ; CN= Gentamycin ; CIP= Ciprofloxacin ; FF= Fosfomycin ; DO= Doximycin ; FA= Fusidic acid ; SXT= sulphamethoxazole/trimethoprim ; RA= Rifampicin.

According to the antibiogram, all MRSA isolates were resistant to two or more antimicrobials drugs (Table 2). Among the five (05) MRSA isolates, antibiotic resistance testing showed that in addition to the resistant to Beta-lactams, 3 MRSA (60%) were resistant to Fusidic acid and/or Ciprofloxacin. Thus, have multidrug resistant MRSA strains. It is interesting to note that nevertheless, no resistant to vancomycin were detected and no isolates carried the *mec C* gene.

Enterotoxins genes detection

PCR revealed that one or more toxins genes were detected. All of toxins genes were present except the *sec* gene (*sea*, *seb*, *sed*, *see*, *seg* and *seh*) in strains analysed (Table 2., 3., and 4.) with variable combinations. For *Staphylococcus aureus*, a high prevalence of enterotoxigenic strains carrying toxins genes (n=14/21 ; 66,67%) were registered, harboring any toxin's gene. Therefore, (9,52%, n=6/63) of *Staphylococci* were enterotoxigenic. The predominance of enterotoxigenic strains were among *Macrococcus caseolyticus* with 36.36%.

One MRSA strain was harbored the gene encoding *Pvl*. Despite, none of the MRSA strains harbored *tsst-1* gene, but it was found in one MSSA strain. In contrast, 33,33% (n=7) of *S. aureus* isolated, do not have the toxins genes. *S. aureus* were multi-enterotoxin genes carriers (more than one enterotoxin). Across all isolates the most identified enterotoxin profiles were *seb* (n=8, 38.09%), followed by *sea*, *see*, *seg*, and *seh* with 3 isolates for each (14.28%). Also, four toxins genes (*sea*, *seb*, *see* and *seh*.) were identified among MRSA strains with one harboring all the four genes in the same time (Table 3.)

The most area affected by the greatest type of enterotoxins genes, was the first one, with all type SEs except *sec* ; followed by the third one, with just three type of SEs (*seb*, *sed*, and *seg*). In the second area, there were just the *seh* enterotoxin gene. All MRSA strains synthesized SEs (*sea*, *seb*, *sed*, *see*, *seg* and *seh*) with a predominance of *seh* and *seb*; all belong to the first area. Among MRSA strains isolated, one was not only multi-resistant drug but multi-enterotoxin genes carries. Also, finding *seh* gene coincided with the presence of *pvl* gene, always for MRSA strains.

Concerning the reste of strains, only *see* toxin gene and toxic-shock syndrome toxin (*tsst-1*) were isolated from non *Staphylococci aureus*. Once from each *S. haemolyticus* (n=1/2) and *S. sciuri* (n=1/8) for *see* toxin gene and fourth among *Macrococcus caseolyticus* (4/11) representing 20% of all strains harboring toxin genes. Our study showed that the majority of *S. aureus* isolates (66,67%, n=14/21) were enterotoxigenic strains, harboring any toxin's gene against 9.52% (n=6/63) of non *S. aureus* strains (Table 5.). Thus, *S. sciuri*, and in addition to *see* gene, out of the eight strains, one of them contained *tsst-1* gene toxin.

Table 4. Virulence genes (enterotoxinic genes) identified in strains isolated from raw sausage samples

Class of toxin	Gene	Enterotoxigenic strains, n (%)			
		<i>S. aureus</i> (N=21)	<i>M. caseolyticus</i> (N=11)	<i>S. haemolyticus</i> (N=2)	<i>S. sciuri</i> (N=8)
Entertoxins	<i>sea</i>	3	-	-	-
	<i>seb</i>	8	-	-	-
	<i>sec</i>	-	-	-	-
	<i>sed</i>	2	-	-	-
	<i>see</i>	3	4	1	1
	<i>seg</i>	3	-	-	-
	<i>seh</i>	3	-	-	-
Toxic-shock syndrome toxin	<i>tsst-1</i>	1	-	-	1
Panton-Valentine leukocidin	<i>pvl</i>	1	-	-	-
Any toxin's gene		14 (66.67)	4 (36.36)	1 (50)	1 (12.5)
None		7 (33.33)	7 (63.63)	1 (50)	7 (87.5)
Total of enterotoxigenic strains n/N (%)		14/ 21 (66.67%)		6/ 63 (9.52 %)	

(N)= Total of strains isolated (n) = number of strain positive for this gene profile. - = no isolates positive for this gene profile

DISCUSSION

The meat and meat products contaminated with *S. aureus* is the most common foodstuff in the world exposing consumers at the risk of outbreak and serious economic consequences (Kadariya et al., 2014; Wang et al., 2017). In addition, coagulase-negative staphylococci has recently become increasingly recognised because of their association with foodborne poisoning (Batista et al., 2013). This is also the case of resistant *Micrococcus caseolyticus* especially in veterinary infections linked to ovine abscesses and bovine mastitis (MacFadyen et al., 2018). Although many researchers have previously reported the presence of *S. aureus* in various foods. The most studied are meat and dairy products with a real lack of scientific publications about sausages, in Algeria and around the world. Thus, as far as the authors know, our study is the first molecular epidemiological survey about traditional sausage « Merguez » in Algeria. In the present investigation, 25 % of sausages evaluated were affected by *S. aureus*. Our results were supported by sausage study in Algeria (Hachemi et al., 2019), Saudi-Arabien (Shawish and Al-Humam, 2016) with 25.22% and 30%, respectively, whereas was higher than that in Italy (Ranucci, 2004) with (11.77%) and lower than that found in Morocco (Ed-Dra et al., 2018) and USA (Thapaliya et al., 2017) with 50% and 42.30%, respectively.

Furthermore, our findings agreed with many meat reports, such as (Chaalal et al., 2018) in Algeria with (29.40%), (Ge et al., 2017) (24.50%) in Greece ; (Pesavento et al., 2007) (29.41%) in Italy; (Safarpour Dehkordi et al., 2017) (26.31%) in Iran, and (Osman et al., 2015) (23.10%) in Egypt. In national studies, similarly results were reported in dairy products by (Akkou M. et al., 2016) ; (Chaalal et al., 2018) and (Matallah et al., 2019). In contrast to above results, the prevalence obtained was higher than those found in Egypt (12%) (Osman et al., 2017) , (16.60%) (Seedy et al., 2017), in Nigeria (9.15%) (Ndahi et al., 2014), in China (1.8%) (Wang et al., 2017), in Greece (18%) (Sergelidis et al., 2015), in Spain (7%) (Benito et al., 2014), and in Italy (9.79%) (Normanno et al., 2007) (11.77%) (Ranucci, 2004) ; despite that in Georgia (Jackson et al., 2013) and in Turkey (Arslan and Ozdemir, 2017) prevalence registered was the highest with (63%) and (42.50%) respectively. Returning to our study, *S. aureus* count was high than the maximum tolerable microbiological limit for raw sausages according to microbiological criteria regarding sausage (Algerian Food Codex., 2016) (commission., 2005).

A wide range of *S. aureus* prevalence and contamination level in sausage was found in this study, indicating variation in *S. aureus* occurrence among the ten (10) Departments studied of Algiers with highest prevalence found in area1 (42.86%). The different prevalence might be attributed to the geographical location due to the fact that this region represent popular region

with a high agglomeration area. Nevertheless, the source of *S. aureus* contamination could be multifactorial and differ greatly between countries and even between cities in the same country especially the underdeveloped world. The presence of *S. aureus* in traditional sausage « Merguez » may indicate a contamination of meat origine (Animal-origin) or/and a possibly failure in hygiene or recontamination due to insufficient hygienic and sanitary practices (Sergelidis and Angelidis, 2017) (Gutierrez et al., 2012) (Gounadaki et al., 2008). Several conditions attest the poor hygienic quality of raw sausage, possibly due, upstream, to either carcass contamination with intestinal contents during slaughtering, or slaughter-house sanitation (Odetokun et al., 2018), to uncontrolled processing, storage, handling and poor personal hygiene specially that *S. aureus* is an indicator of hygiene and sanitary conditions in food industries (Simon and Sanjeev, 2007) (Ed-Dra, 2017) (Hachemi et al., 2019).

The MALDI-TOF MS as a revolutionary technology as well for inexpensive, easier and faster diagnosis than conventional phenotypic and molecular identification methods (Biswas and Rolain, 2013) showed great precision (99.3%) in identification of strains (Mlaga et al., 2017) which described a varied microbiota (Figure 1.) as reported by (Ouoba et al., 2019). Thus, the biodiversity showed greater rate of *S. saprophyticus* (32.87%) which was the predominant species followed by *S. sciuri* (10.95%) and *S. xylosus* (8.21%). Our results were similar than those recorded by (Corbiere Morot-Bizot et al., 2007) and (Talon et al., 2008) in Italy and Belgium, respectively. Also, studies of (Osman et al., 2017; Osman et al., 2015) As a hypothesis, this is probably due to the kind of meat product (Soares Casaes Nunes et al., 2015). Moreover, *S. saprophyticus* has been described as emerging opportunistic pathogens and frequent contaminant of sausages and raw meats (Leroy et al., 2010). In animals, it has been isolated from rectal swabs of cattle carcasses and pigs. Contrariwise, in humans, the reservoir of *S. saprophyticus* is the gastro-intestinal and urinary tract (Coton et al., 2010; Mlaga et al., 2017). Other *Staphylococci* species isolated in the present study are mainly associated with the dominant species in human skin and occasionally isolated from the skin of domestic animals (Hosseinzadeh and Dastmalchi Saei, 2019). Species as *S. xylosus*, *S. lentus*, *S. haemolyticus* and *S. warneri* are commonly use as commercial starter cultures for sausage manufacturing and the most common species found (Ouoba et al., 2019). Although, the presence of these species in food should be taken seriously concerning possible contamination of the starter inoculum and/or improvements in the sausage manufacturing process (Soares Casaes Nunes et al., 2015). Especially that the antibioresistance rates of *Staphylococci* spp. recorded is increasingly important which is similar than findings revealed by (Fijalkowski et al., 2016). Furthermore,

considering *Macrococcus caseolyticus* prevalence and the rates of resistance recorded in our study, future work, especially to detect *mecD* gene, should be achieved since it is considered as a potential reservoir of methicillin-resistance determinants that may transfer to the closely-related but more pathogenic staphylococci (MacFadyen et al., 2018).

In addition, known for its multidrug resistance (Rong et al., 2017), *S. aureus* infections are an important cause of morbidity and mortality in animals and may be involved in zoonotic transmission (Gucukoglu et al., 2013). Furthermore, recently, Methicillin-Resistant *S. aureus* is increasing in an alarming rate and became a significant public health concern (Pesavento et al., 2007), (Antonanzas et al., 2015). Our study showed that 100 % of *S. aureus* exhibited resistance to at least one of the antibiotics tested. Moreover, 19.04 % were resistant to three or more antibiotics « Multi-Drug Resistant ». (Thapaliya et al., 2017) ; (Ge et al., 2017), reported the same rate for beef products in USA and dairy milk in Algeria (Akkou M. et al., 2016). In contrast, (Wang et al., 2017) and (Chaalal et al., 2018) found high percentages with 39.10% and 33.30% respectively ; however, a high levels of Multi-drug resistant isolates were registered in Greece (59.30%) (Sergelidis et al., 2015) , and Morocco (69.84%) (Ed-Dra et al., 2018).

Resistance to Tetracyclines, Oxacillin and Penicillin were common among *S. aureus* isolated (Pu et al., 2010) (Jackson et al., 2013). Our antimicrobial analysis showed that the highest resistance among all antibiotics tested, was against Beta-lactams with 93.65%. Penicillin (90.48%), followed by Oxacillin (95.24%), and Cefoxitin (95.24%) remain the most common with high prevalences. In second place, resistance was recorded against Fusidic acid (19.05%) and Ciprofloxacin (14.29%). Our results for Tetracyclines resistance concord with several earlier reports from sausage (Ed-Dra et al., 2018) and different meat products (Wang et al., 2017), (Seedy et al., 2017), (Akkou M. et al., 2016), (Sergelidis and Angelidis, 2017), (Ge et al., 2017), (Pu et al., 2010) and (Alibayov et al., 2014). In contrast, (Aydin et al., 2011) found 8.33% in Turkey sausage, low rates were also recorded in meat and meat products in Italy (25%) (Pesavento et al., 2007), in Turkey (22.20%) (Arslan and Ozdemir, 2017) and cow milk in Algeria (Akkou M. et al., 2016).

More, our findings for Oxacillin resistance were similar than that registered in Italy and Algeria (Pesavento et al., 2007), (Chaalal et al., 2018). However, sausage studies established by Ed-Dra et al. (2018) And Aydin et al. (2011) (Ed-Dra et al., 2018), (Aydin et al., 2011) were registered no resistance for Oxacillin ; similar situation for meat studies by Arslan et al. (2017) (Arslan and Ozdemir, 2017). Other researchers have found very low resistance such as (Wang et al., 2017), (Ge et al., 2017), (Pu et al., 2010). Moreover, high resistance against Penicillin was

exhibited in our study with 90.48 % which is nearly similar with rate found by (Aydin et al., 2011), (Alibayov et al., 2014), (Wang et al., 2017), (Seedy et al., 2017), (Ge et al., 2017) and (Arslan and Ozdemir, 2017). Earlier studies in sausage in Morocco (Ed-Dra et al., 2018) and in Italian meat (Pesavento et al., 2007) ; were found a low resistance. In the second position, low resistance rate of Erythromycin and Rifampicin resistance were recorded, which was similar than many studies (Pesavento et al., 2007), (Pu et al., 2010), (Chaalal et al., 2018) and (Seedy et al., 2017). Noting that (Sergelidis et al., 2015; Wang et al., 2017) were found high resistance.

Further, no resistance was recorded to Vancomycin, Teicoplanin, Clindamycin, Fosfomycin, and SXT were recorded in our study; which is consistent with several meat products studies (Pesavento et al., 2007), (Pu et al., 2010), (Aydin et al., 2011), (Sergelidis et al., 2015), (Arslan and Ozdemir, 2017), (Ge et al., 2017), (Wang et al., 2017), (Seedy et al., 2017), (Chaalal et al., 2018) and even in Algerian raw milk (Akkou M. et al., 2016). The case of Fusidic acid (19.05%) is important compared with (Ed-Dra et al., 2018) and (Chaalal et al., 2018). However, lack of resistance to Gentamycin in our study was different than results registred in Algeria (Chaalal et al., 2018) with 39.3%.

For the methicillin resistance profil, five (05) isolates were harbored the *mecA* gene ; and were confirmed Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) with prevalence of 23.80% all belong to the eastern periphery of Algiers (Area 1). The remaining 16 isolates of *S. aureus* (76.20%) were Methicillin-Sensible *Staphylococcus aureus* (MSSA) carriers. No isolates carried the *mecC* gene. Thus, we report for the first time in Algeria a high recovery of *S. aureus* and the presence of *mecA* carrying MRSA strains found in raw sausage « Merguez ». These data suggest that raw sausage samples were contaminated, possibly originally or during processing of the meat, and may present a source of MRSA for consumers and others who handle raw meat. Similar level of *S. aureus* prevalence was reported by reports such as : (Ranucci et al., 2004) with 21,1% ; (Thapaliya et al., 2017) with 27.8%, and (Aydin et al., 2010) with 14,4%. PVL-positive (1.9%) (Thapaliya et al., 2017) and (4.5%) carried *mecA* and (Aydin et al., 2010) with no MRSA strains.

Our report was less than those reported by (Shawish and Al-Humam, 2016) with 30%. To note that the presence of MRSA in North of Africa has been previously reported from raw milk and poultry meat us described by (Chaalal et al., 2018) and (Chairat et al., 2015) with 21,5% and 1,2% of MRSA, respectively. « Merguez ». Also, in contrast with the study conducted by (Fijalkowski et al., 2016) our study had enregistred the absence of methicillin resistance gene *mecA* among *Staphylococci* spp. and *Micrococcus caseolyticus* strains.

In addition, the study of enterotoxinicity of *S. aureus* has showed that the percentage of enterotoxigenic strains was considerably higher (66.67%) with predominance of *seb* toxin gene followed by *sea*, *seg*, *seh* and *see*. Similar result was carried out by (Wang et al., 2017). In contrast, (Gutierrez et al., 2012) was recorded a predominance of *sea*, *seg* and *seh*, with no *see* and *seb* toxin genes. For (Aydin et al., 2011), the majority of *S. aureus* isolates (more than 53%) were non-enterotoxinic with predominance of *sea* and *sec* toxin genes. Concerning *Staphylococci* and *Macrococcus caseolyticus* strains, our study was registred that enterotoxinicity was related only to *S. haemolyticus* and *S. sciuri* which were harbored gene coding for *see* toxin. The *tsst-1* gene was also be detected in *S. sciuri*. Similar results were found by (Soares Casaes Nunes et al., 2015) with *S. sciuri* coding for *sed* and *sei* genes. In contrast, study carried out by (Fijalkowski et al., 2016) could not isolate any toxin genes, whereas, in the study carried out by (Wang et al., 2017) *see* toxin gene could not be isolated. In this study, *S. aureus* strains were related to toxin genes located on chromosomes, however, *Staphylococci* spp and *Macrococcus caseolyticus* were linked to toxin genes located on phages. This findings confirm the possible acquisition of virulence factors among *Staphylococcus* spp. other than *S. aureus*.

CONCLUSION

The findings of this first report about the molecular characterization, diversity and antibioresistance profile of *Staphylococcus* spp. and *Macrococcus caseolyticus* isolates in raw sausage in Algiers, demonsrate that not only *S. aureus* but also *S. haemolyticus*, *S. sciuri* and *M. caseolyticus* were considred like potential hazard for consumers ; as well by their virulence as by their high antimicrobial resistance. More, our study dictate a high prevalence of enterotoxinic *S. aureus* in sausage, with predominance of *seb* toxin gene. Therefore, *Staphylococci* spp. and *Macrococcus caseolyticus* have the ability to code for toxins, mainly *see* toxin gene which requires vigilant food safety and necessite enforcing hygienic practices. The prevalence of MRSA among the raw sausage tested emphasizes the role of the human and food animal as reservoirs of bacterial resistance, driving us to study the contamination of raw sausage from farm to fork. Hence, the risk of transmission of *Staphylococci*, *Macrococcus caseoltyticus* and MRSA strains carying different antimicrobial resistance and virulence genes in raw sausage chain, represents a potential threat for the spread of these pathogens in the community and should be regarded. Furthermore, it is necessary to improve sanitation conditions, and education regarding the personal hygiene in order to ensure food safety. As perspective, studies might be done to characterize *M. caseolyticus* in order to inverstigat their virulence factors.

Acknowledgments

The authors would like to express their appreciation and thanks to Hichem Gaoui for great help through this study. All authors did not receive financial assistance from any source.

Competing Interests

The authors declare that they have no competing interests.

REFERENCE

Abat, C., Raoult, D., Rolain, J.M., 2018. Are we living in an antibiotic resistance nightmare? Clin Microbiol Infect 24, 568-569.

Akkou M., Antri, K., Bachtarzi, M.A., Bes, M., Tristan, A., Dauwalder, O., Kaidi, R., Meugnier, H., Tazir, M., Etienne, J., Laurent, F., , and Ramdani-Bougouessa, N., 2016. Phenotypic and genotypic characterization of Staphylococcus aureus strains associated with bovine mastitis and nasal carriage of workers in contact to animals in Algeria. Pak. Vet. J. 36 (2), 184-188.

Algerian Food Codex., 2016. The microbiological criteria regarding sausage Official Journal Of The Algerian Food Codex.

Alibayov, B., Zdeňková, K., Purkrťová, S., Demnerová, K., Karpíšková, R., 2014. Detection of some phenotypic and genotypic characteristics of Staphylococcus aureus isolated from food items in the Czech Republic. Annals of Microbiology 64, 1587-1596.

Ananou, S., Maqueda, M., Martinez-Bueno, M., Galvez, A., Valdivia, E., 2005. Control of Staphylococcus aureus in sausages by enterocin AS-48. Meat Sci 71, 549-556.

Antonanzas, F., Lozano, C., Torres, C., 2015. Economic features of antibiotic resistance: the case of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Pharmacoeconomics 33, 285-325.

Arslan, S., Ozdemir, F., 2017. Molecular characterization and detection of enterotoxins, methicillin resistance genes and antimicrobial resistance of Staphylococcus aureus from fish and ground beef. Pol J Vet Sci 20, 85-94.

Aydin, A., Muratoglu, K., Sudagidan, M., Bostan, K., Okuklu, B., Harsa, S., 2010. Prevalence and Antibiotic Resistance of Foodborne Staphylococcus aureus Isolates in Turkey. Foodborne Pathogens and Disease 8, 63-69.

Aydin, A., Sudagidan, M., Muratoglu, K., 2011. Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne Staphylococcus aureus strains isolated in the Marmara Region of Turkey. Int J Food Microbiol 148, 99-106.

Basanisi, M.G., Nobili, G., La Bella, G., Russo, R., Spano, G., Normanno, G., La Salandra, G., 2016. Molecular characterization of Staphylococcus aureus isolated from sheep and goat cheeses in southern Italy. Small Ruminant Research 135, 17-19.

Batista, J.E., Ferreira, E.L., Nascimento, D.C., Ventura, R.F., de Oliveira, W.L., Leal, N.C., Lima-Filho, J.V., 2013. Antimicrobial resistance and detection of the mecA gene besides enterotoxin-encoding genes

- among coagulase-negative Staphylococci isolated from clam meat of *Anomalocardia brasiliana*. Foodborne Pathog Dis 10, 1044-1049.
- Benito, D., Gomez, P., Lozano, C., Estepa, V., Gomez-Sanz, E., Zarazaga, M., Torres, C., 2014. Genetic lineages, antimicrobial resistance, and virulence in *Staphylococcus aureus* of meat samples in Spain: analysis of immune evasion cluster (IEC) genes. Foodborne Pathog Dis 11, 354-356.
- Benito, D., Lozano, C., Jimenez, E., Albujar, M., Gomez, A., Rodriguez, J.M., Torres, C., 2015. Characterization of *Staphylococcus aureus* strains isolated from faeces of healthy neonates and potential mother-to-infant microbial transmission through breastfeeding. FEMS Microbiol Ecol 91.
- Biswas, S., Rolain, J.M., 2013. Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. J Microbiol Methods 92, 14-24.
- Campbell, J.A., Dickson, J.S., Cordray, J.C., Olson, D.G., Mendonca, A.F., Prusa, K.J., 2014. Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during thermal processing of frankfurters, summer sausage, and ham. Foodborne Pathog Dis 11, 50-54.
- Can, H.Y., Elmali, M., Karagoz, A., 2017. Molecular Typing and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Raw Milk, Cheese, Minced Meat, and Chicken Meat Samples. Korean J Food Sci Anim Resour 37, 175-180.
- Chaalal, W., Chaalal, N., Bourafa, N., Kihal, M., Diene, S.M., Rolain, J.-M., 2018. Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Products in Western Algeria. Foodborne Pathogens and Disease.
- Chairat, S., Gharsa, H., Lozano, C., Gomez-Sanz, E., Gomez, P., Zarazaga, M., Boudabous, A., Torres, C., Ben Slama, K., 2015. Characterization of *Staphylococcus aureus* from Raw Meat Samples in Tunisia: Detection of Clonal Lineage ST398 from the African Continent. Foodborne Pathog Dis 12, 686-692.
- commission., E., 2005. Microbiological criteria for foodstuffs EC Regulation 2005/2073 of 15 November 2005. In. Official Journal of European Union, L338/1 City.
- Corbiere Morot-Bizot, S., Leroy, S., Talon, R., 2007. Monitoring of staphylococcal starters in two French processing plants manufacturing dry fermented sausages. J Appl Microbiol 102, 238-244.
- Coton, E., Desmonts, M.H., Leroy, S., Coton, M., Jamet, E., Christieans, S., Donnio, P.Y., Lebert, I., Talon, R., 2010. Biodiversity of coagulase-negative Staphylococci in French cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. Int J Food Microbiol 137, 221-229.
- Deurenberg, R.H., Nieuwenhuis, R.F., Driessen, C., London, N., Stassen, F.R., van Tiel, F.H., Stobberingh, E.E., Vink, C., 2005. The prevalence of the *Staphylococcus aureus* *tst* gene among community- and hospital-acquired strains and isolates from Wegener's Granulomatosis patients. FEMS Microbiol Lett 245, 185-189.
- Ed-Dra, A., Filali, F.R., Bouymajane, A., Benhallam, F., El Allaoui, A., Chaiba, A., Giarratana, F., 2018. Antibiotic Susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolated from sausages in Meknes, Morocco. Vet World 11, 1459-1465.
- Ed-Dra, A., Rhazi Filali, F., El Allaoui, A. and Aboulkacem, A., 2017. Factors influencing the bacteriological quality of sausages sold in Meknes city, Morocco. IFRJ 24, 933-938.

- 602 Fijalkowski, K., Peitler, D., Karakulska, J., 2016. Staphylococci isolated from ready-to-eat meat -
603 Identification, antibiotic resistance and toxin gene profile. *Int J Food Microbiol* 238, 113-120.
- 604 Francois, P., Renzi, G., Pittet, D., Bento, M., Lew, D., Harbarth, S., Vaudaux, P., Schrenzel, J., 2004. A
605 novel multiplex real-time PCR assay for rapid typing of major staphylococcal cassette chromosome
606 mec elements. *J Clin Microbiol* 42, 3309-3312.
- 607 Garcia-Alvarez, L., Holden, M.T., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F., Curran, M.D., Walpole, E.,
608 Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M.,
609 Pichon, B., Hill, R.L., Larsen, A.R., Skov, R.L., Peacock, S.J., Maskell, D.J., Holmes, M.A., 2011. Meticillin-
610 resistant *Staphylococcus aureus* with a novel mecA homologue in human and bovine populations in
611 the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis* 11, 595-603.
- 612 Ge, B., Mukherjee, S., Hsu, C.H., Davis, J.A., Tran, T.T.T., Yang, Q., Abbott, J.W., Ayers, S.L., Young, S.R.,
613 Crarey, E.T., Womack, N.A., Zhao, S., McDermott, P.F., 2017. MRSA and multidrug-resistant
614 *Staphylococcus aureus* in U.S. retail meats, 2010-2011. *Food Microbiol* 62, 289-297.
- 615 Gholamzad, M., Khatami, M.R., Ghassemi, S., Vaise Malekshahi, Z., Shooshtari, M.B., 2015. Detection
616 of *Staphylococcus Enterotoxin B* (SEB) Using an Immunochromatographic Test Strip. *Jundishapur J*
617 *Microbiol* 8, e26793.
- 618 Giacinti, G., Carfora, V., Caprioli, A., Sagrafoli, D., Marri, N., Giangolini, G., Amoroso, R., Iurescia, M.,
619 Stravino, F., Dottarelli, S., Feltrin, F., Franco, A., Amatiste, S., Battisti, A., 2017. Prevalence and
620 characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying mecA or mecC and methicillin-
621 susceptible *Staphylococcus aureus* in dairy sheep farms in central Italy. *J Dairy Sci* 100, 7857-7863.
- 622 Gomez-Sanz, E., Torres, C., Lozano, C., Fernandez-Perez, R., Aspiroz, C., Ruiz-Larrea, F., Zarazaga, M.,
623 2010. Detection, molecular characterization, and clonal diversity of methicillin-resistant
624 *Staphylococcus aureus* CC398 and CC97 in Spanish slaughter pigs of different age groups. *Foodborne*
625 *Pathog Dis* 7, 1269-1277.
- 626 Gounadaki, A.S., Skandamis, P.N., Drosinos, E.H., Nychas, G.J., 2008. Microbial ecology of food contact
627 surfaces and products of small-scale facilities producing traditional sausages. *Food Microbiol* 25, 313-
628 323.
- 629 Gucukoglu, A., Cadirci, O., Terzi, G., Kevenk, T.O., Alisarli, M., 2013. Determination of enterotoxigenic
630 and methicillin resistant *Staphylococcus aureus* in ice cream. *J Food Sci* 78, M738-741.
- 631 Gutierrez, D., Delgado, S., Vazquez-Sanchez, D., Martinez, B., Cabo, M.L., Rodriguez, A., Herrera, J.J.,
632 Garcia, P., 2012. Incidence of *Staphylococcus aureus* and analysis of associated bacterial communities
633 on food industry surfaces. *Appl Environ Microbiol* 78, 8547-8554.
- 634 Hachemi, A., Zenia, S., Denia, M.F., Guessoum, M., Hachemi, M.M., Ait-Oudhia, K., 2019.
635 Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance
636 of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting
637 foodborne poisoning. *Vet World* 12, 1240-1250.
- 638 Hosseinzadeh, S., Dastmalchi Saei, H., 2019. Staphylococcal species associated with bovine mastitis in
639 the North West of Iran: Emerging of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of*
640 *Veterinary Science and Medicine* 2, 27-34.

- 641 Jackson, C.R., Davis, J.A., Barrett, J.B., 2013. Prevalence and characterization of methicillin-resistant
642 *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *J Clin Microbiol* 51, 1199-
643 1207.
- 644 Jansen, W., Woudstra, S., Muller, A., Grabowski, N., Schoo, G., Gerulat, B., Klein, G., Kehrenberg, C.,
645 2018. The safety and quality of pork and poultry meat imports for the common European market
646 received at border inspection post Hamburg Harbour between 2014 and 2015. *PLoS One* 13,
647 e0192550.
- 648 Jiang, B., You, B., Tan, L., Yu, S., Li, H., Bai, G., Li, S., Rao, X., Xie, Z., Shi, X., Peng, Y., Hu, X., 2018. Clinical
649 *Staphylococcus argenteus* Develops to Small Colony Variants to Promote Persistent Infection. *Front*
650 *Microbiol* 9, 1347.
- 651 Johnson, W.M., Tyler, S.D., Ewan, E.P., Ashton, F.E., Pollard, D.R., Rozee, K.R., 1991. Detection of genes
652 for enterotoxins, exfoliative toxins, and toxic shock syndrome toxin 1 in *Staphylococcus aureus* by the
653 polymerase chain reaction. *Journal of Clinical Microbiology* 29, 426-430.
- 654 Kadariya, J., Smith, T.C., Thapaliya, D., 2014. *Staphylococcus aureus* and staphylococcal food-borne
655 disease: an ongoing challenge in public health. *Biomed Res Int* 2014, 827965.
- 656 Kim, Y.B., Seo, K.W., Jeon, H.Y., Lim, S.K., Lee, Y.J., 2018. Characteristics of the antimicrobial resistance
657 of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler
658 operations in Korea. *Poult Sci* 97, 962-969.
- 659 Kwon, N.H., Park, K.T., Jung, W.K., Youn, H.Y., Lee, Y., Kim, S.H., Bae, W., Lim, J.Y., Kim, J.Y., Kim, J.M.,
660 Hong, S.K., Park, Y.H., 2006. Characteristics of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* isolated from
661 chicken meat and hospitalized dogs in Korea and their epidemiological relatedness. *Vet Microbiol* 117,
662 304-312.
- 663 Lakhundi, S., Zhang, K., 2018. Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization,
664 Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 31.
- 665 Leroy, S., Giammarinaro, P., Chacornac, J.P., Lebert, I., Talon, R., 2010. Biodiversity of indigenous
666 staphylococci of naturally fermented dry sausages and manufacturing environments of small-scale
667 processing units. *Food Microbiol* 27, 294-301.
- 668 Li, Y., Zhao, R., Zhang, X., Han, Q., Qian, X., Gu, G., Shi, J., Xu, J., 2015. Prevalence of Enterotoxin Genes
669 and *spa* Genotypes of Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from a Tertiary Care Hospital in
670 China. *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 9, DC11-DC14.
- 671 Liao, F., Gu, W., Yang, Z., Mo, Z., Fan, L., Guo, Y., Fu, X., Xu, W., Li, C., Dai, J., 2018. Molecular
672 characteristics of *Staphylococcus aureus* isolates from food surveillance in southwest China. *BMC*
673 *Microbiol* 18, 91.
- 674 Liu, H., Li, S., Meng, L., Dong, L., Zhao, S., Lan, X., Wang, J., Zheng, N., 2017. Prevalence, antimicrobial
675 susceptibility, and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* isolated from dairy herds in
676 northern China. *J Dairy Sci* 100, 8796-8803.
- 677 MacFadyen, A.C., Fisher, E.A., Costa, B., Cullen, C., Paterson, G.K., 2018. Genome analysis of methicillin
678 resistance in *Macroccoccus caseolyticus* from dairy cattle in England and Wales. *Microb Genom* 4.

- 679 Mama, O.M., Gomez-Sanz, E., Ruiz-Ripa, L., Gomez, P., Torres, C., 2019. Diversity of staphylococcal
680 species in food producing animals in Spain, with detection of PVL-positive MRSA ST8 (USA300). *Vet*
681 *Microbiol* 233, 5-10.
- 682 Martins, P.D., de Almeida, T.T., Basso, A.P., de Moura, T.M., Frazzon, J., Tondo, E.C., Frazzon, A.P.,
683 2013. Coagulase-positive staphylococci isolated from chicken meat: pathogenic potential and
684 vancomycin resistance. *Foodborne Pathog Dis* 10, 771-776.
- 685 Matallah, A.M., Bouayad, L., Boudjellaba, S., Mebkhout, F., Hamdi, T.M., Ramdani-Bouguessa, N., 2019.
686 *Staphylococcus aureus* isolated from selected dairies of Algeria: Prevalence and susceptibility to
687 antibiotics. *Vet World* 12.
- 688 Mehrotra, M., Wang, G., Johnson, W.M., 2000. Multiplex PCR for detection of genes for
689 *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin
690 resistance. *J Clin Microbiol* 38, 1032-1035.
- 691 Mlaga, K.D., Dubourg, G., Abat, C., Chaudet, H., Lotte, L., Diene, S.M., Raoult, D., Ruimy, R., Rolain,
692 J.M., 2017. Using MALDI-TOF MS typing method to decipher outbreak: the case of *Staphylococcus*
693 *saprophyticus* causing urinary tract infections (UTIs) in Marseille, France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*
694 36, 2371-2377.
- 695 Murakami, K., Minamide, W., Wada, K., Nakamura, E., Teraoka, H., Watanabe, S., 1991. Identification
696 of methicillin-resistant strains of staphylococci by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol* 29, 2240-
697 2244.
- 698 Ndahi, M.D., Kwaga, J.K., Bello, M., Kabir, J., Umoh, V.J., Yakubu, S.E., Nok, A.J., 2014. 'Prevalence and
699 antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
700 strains from raw meat and meat products in Zaria, Nigeria. *Lett Appl Microbiol* 58, 262-269.
- 701 Normanno, G., Corrente, M., La Salandra, G., Dambrosio, A., Quaglia, N.C., Parisi, A., Greco, G.,
702 Bellacicco, A.L., Virgilio, S., Celano, G.V., 2007. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in
703 foods of animal origin product in Italy. *Int J Food Microbiol* 117, 219-222.
- 704 Odetokun, I.A., Ballhausen, B., Adetunji, V.O., Ghali-Mohammed, I., Adelowo, M.T., Adetunji, S.A.,
705 Fetsch, A., 2018. *Staphylococcus aureus* in two municipal abattoirs in Nigeria: Risk perception, spread
706 and public health implications. *Vet Microbiol* 216, 52-59.
- 707 Omoe, K., Ishikawa, M., Shimoda, Y., Hu, D.L., Ueda, S., Shinagawa, K., 2002. Detection of seg, seh, and
708 sei genes in *Staphylococcus aureus* isolates and determination of the enterotoxin productivities of *S.*
709 *aureus* isolates Harboring seg, seh, or sei genes. *J Clin Microbiol* 40, 857-862.
- 710 Osman, K., Alvarez-Ordóñez, A., Ruiz, L., Badr, J., ElHofy, F., Al-Maary, K.S., Moussa, I.M.I., Hessain,
711 A.M., Orabi, A., Saad, A., Elhadidy, M., 2017. Antimicrobial resistance and virulence characterization of
712 *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci from imported beef meat. *Ann Clin*
713 *Microbiol Antimicrob* 16, 35.
- 714 Osman, K.M., Amer, A.M., Badr, J.M., Saad, A.S., 2015. Prevalence and antimicrobial resistance profile
715 of *Staphylococcus* species in chicken and beef raw meat in Egypt. *Foodborne Pathog Dis* 12, 406-413.
- 716 Ouoba, L.I.I., Voudibio Mbozo, A.B., Anyogu, A., Obioha, P.I., Lingani-Sawadogo, H., Sutherland, J.P.,
717 Jespersen, L., Ghoddusi, H.B., 2019. Environmental heterogeneity of *Staphylococcus* species from
718 alkaline fermented foods and associated toxins and antimicrobial resistance genetic elements. *Int J*
719 *Food Microbiol* 311, 108356.

- 720 Pesavento, G., Ducci, B., Comodo, N., Nostro, A.L., 2007. Antimicrobial resistance profile of
721 *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus*
722 *aureus* (MRSA). *Food Control* 18, 196-200.
- 723 Pu, S., Wang, F., Ge, B., 2010. Characterization of Toxin Genes and Antimicrobial Susceptibility of
724 *Staphylococcus aureus* Isolates from Louisiana Retail Meats. *Foodborne Pathogens and Disease* 8, 299-
725 306.
- 726 Rall, V.L., Vieira, F.P., Rall, R., Vieitis, R.L., Fernandes, A., Jr., Candeias, J.M., Cardoso, K.F., Araujo, J.P.,
727 Jr., 2008. PCR detection of staphylococcal enterotoxin genes in *Staphylococcus aureus* strains isolated
728 from raw and pasteurized milk. *Vet Microbiol* 132, 408-413.
- 729 Ranucci, D., Miraglia, D., Branciarì, R., D'Ovidio, V., Severini, M., 2004. Microbiological characteristics
730 of hamburgers and raw pork sausages, and antibiotic-resistance of isolated bacteria. *Vet Res Commun*
731 28 Suppl 1, 269-272.
- 732 Ranucci, D.M., D. Branciarì, R. D'Ovidio R. and Severini, M., 2004. Microbiological Characteristics of
733 Hamburgers and Raw Pork Sausages, and Antibiotic-resistance of Isolated Bacteria. *Veterinary*
734 *Research Communications* 28, 269–272.
- 735 Rong, D., Wu, Q., Xu, M., Zhang, J., Yu, S., 2017. Prevalence, Virulence Genes, Antimicrobial
736 Susceptibility, and Genetic Diversity of *Staphylococcus aureus* from Retail Aquatic Products in China.
737 *Front Microbiol* 8, 714.
- 738 Roussel, S., Felix, B., Vingadassalon, N., Grout, J., Hennekinne, J.A., Guillier, L., Brisabois, A., Auvray, F.,
739 2015. *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France: comparison
740 of different molecular typing methods, including MLVA. *Front Microbiol* 6, 882.
- 741 Safarpour Dehkordi, F., Gandomi, H., Basti, A.A., Misaghi, A., Rahimi, E., 2017. Phenotypic and
742 genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*
743 isolated from hospital food. *Antimicrob Resist Infect Control* 6, 104.
- 744 Schwendener, S., Nigg, A., Collaud, A., Overesch, G., Kittl, S., Phumthanakorn, N., Perreten, V., 2019.
745 Typing of *mecD* Islands in Genetically Diverse Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains
746 from Cattle. *Appl Environ Microbiol* 85.
- 747 Schwendener, S., Perreten, V., 2018. The integrase of the *Staphylococcus aureus* resistance island
748 *mecD* (*McRImecD*) inserts DNA site-specifically into *Staphylococcus* and *Bacillus* chromosomes. *Mol*
749 *Microbiol* 110, 455-468.
- 750 Seedy, F.R.E., Samy, A.A., Salam, H.S.H., Khairy, E.A., Koraney, A.A., 2017. Polymerase chain reaction
751 detection of genes responsible for multiple antibiotic resistance *Staphylococcus aureus* isolated from
752 food of animal origin in Egypt. *Vet World* 10, 1205-1211.
- 753 Seng, P., Drancourt, M., Gouriet, F., La Scola, B., Fournier, P.E., Rolain, J.M., Raoult, D., 2009. Ongoing
754 revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption
755 ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 49, 543-551.
- 756 Seng, P., Rolain, J.M., E., F.P., La Scola, B., Drancourt, M., Raoult, D., 2010. MALDI-TOF-mass
757 spectrometry applications in clinical microbiology *Future Microbiol.* 5, 1733-1754.
- 758 Sergelidis, D., Angelidis, A.S., 2017. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-
759 borne pathogen. *Lett Appl Microbiol* 64, 409-418.

- 760 Sergelidis, D., Papadopoulos, T., Komodromos, D., Sergelidou, E., Lazou, T., Papagianni, M., Zdragas, A.,
761 Papa, A., 2015. Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from small ruminants and their
762 meat at slaughter and retail level in Greece. *Lett Appl Microbiol* 61, 498-503.
- 763 Shawish, R., Al-Humam, N., 2016. Contamination of beef products with staphylococcal classical
764 enterotoxins in Egypt and Saudi Arabia. *GMS Hygiene and Infection Control* 11.
- 765 Shore, A.C., Coleman, D.C., 2013. Staphylococcal cassette chromosome mec: recent advances and new
766 insights. *Int J Med Microbiol* 303, 350-359.
- 767 Simon, S.S., Sanjeev, S., 2007. Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products
768 and fish processing factory workers. *Food Control* 18, 1565-1568.
- 769 Soares Casaes Nunes, R., Mere Del Aguila, E., Paschoalin, V.M., 2015. Safety Evaluation of the
770 Coagulase-Negative *Staphylococci* Microbiota of Salami: Superantigenic Toxin Production and
771 Antimicrobial Resistance. *Biomed Res Int* 2015, 483548.
- 772 Suzuki, Y., Kubota, H., Ono, H.K., Kobayashi, M., Murauchi, K., Kato, R., Hirai, A., Sadamasu, K., 2017.
773 Food poisoning outbreak in Tokyo, Japan caused by *Staphylococcus argenteus*. *Int J Food Microbiol*
774 262, 31-37.
- 775 Talon, R., Leroy, S., Lebert, I., Giammarinaro, P., Chacornac, J.P., Latorre-Moratalla, M., Vidal-Carou, C.,
776 Zanardi, E., Conter, M., Lebecque, A., 2008. Safety improvement and preservation of typical sensory
777 qualities of traditional dry fermented sausages using autochthonous starter cultures. *Int J Food*
778 *Microbiol* 126, 227-234.
- 779 Thapaliya, D., Forshey, B.M., Kadariya, J., Quick, M.K., Farina, S., A, O.B., Nair, R., Nworie, A., Hanson,
780 B., Kates, A., Wardyn, S., Smith, T.C., 2017. Prevalence and molecular characterization of
781 *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food*
782 *Microbiol* 65, 122-129.
- 783 Velasco, V., Vergara, J.L., Bonilla, A.M., Munoz, J., Mallea, A., Vallejos, D., Quezada-Aguiluz, M.,
784 Campos, J., Rojas-Garcia, P., 2018. Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains in
785 the Pork Chain Supply in Chile. *Foodborne Pathog Dis*.
- 786 Wakabayashi, Y., Umeda, K., Yonogi, S., Nakamura, H., Yamamoto, K., Kumeda, Y., Kawatsu, K., 2018.
787 Staphylococcal food poisoning caused by *Staphylococcus argenteus* harboring staphylococcal
788 enterotoxin genes. *Int J Food Microbiol* 265, 23-29.
- 789 Walker-York-Moore, L., Moore, S.C., Fox, E.M., 2017. Characterization of Enterotoxigenic *Bacillus*
790 *cereus* sensu lato and *Staphylococcus aureus* Isolates and Associated Enterotoxin Production Dynamics
791 in Milk or Meat-Based Broth. *Toxins (Basel)* 9.
- 792 Wang, W., Baloch, Z., Jiang, T., Zhang, C., Peng, Z., Li, F., Fanning, S., Ma, A., Xu, J., 2017.
793 Enterotoxigenicity and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Retail Food in
794 China. *Front Microbiol* 8, 2256.
- 795 Zhang, J., Suo, Y., Zhang, D., Jin, F., Zhao, H., Shi, C., 2018. Genetic and Virulent Difference Between
796 Pigmented and Non-pigmented *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol* 9, 598.
- 797
- 798

CONCLUSION GÉNÉRALE

CONCLUSION GENERALE

“ Once you stop learning, you start dying ”

— Albert Einstein

A

L'issu de notre thèse de doctorat, nous pouvons avancer avec assurance que nos objectifs tracés au départ ont été tous atteints ; à savoir ; d'enrichir les données épidémiologiques Algériennes concernant les taux de prévalence de la contamination des saucisses à *S. aureus*, aussi de caractériser le profil de résistance aux antibiotiques et le profil moléculaire des souches isolées, en cherchant les gènes de résistance, et les gènes codant pour les facteurs de virulence. Egalement, de réaliser les premières enquêtes épidémiologiques Algériennes sur le comportement de consommation de saucisses crues dans le contexte national et de déceler les facteurs de risque ; aussi bien pour les habitudes de consommation, que pour le comportement d'utilisation des antibiotiques après déclenchement de la maladie.

Nos résultats d'études, ont permis d'avancer un taux non négligeable de contamination à *S. aureus* dans la saucisse (25.22%), avec des prévalences très importantes au niveau de certaines Daira de l'Algérois, tels qu'El Harrach et Beraki. Aussi, l'étude a révélée des taux élevés de résistance aux tétracyclines (58%) et oxacilline (36%), avec un indice de résistance bactérienne (MAR) qui inclut 20 profils > à 0.2. Concernant la diversité microbienne des souches isolées, (86.90%) des souches étaient des *Staphylococci* spp. incluant le *S. saprophyticus* (32.87%), *S. aureus* (28.76%), *S. sciuri* (10.95%), *S. xylosus* (8.21%), *S. gallinarum* (5.47%), *S. vitulinus* (4.10%), et *S. equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, avec 2.73% et le *S. warneri* (1.36%). Le reste a été représenté par *Macrococcus caseolyticus* avec 13.09% (n=11/84). A noter que des taux de résistance alarmants ont été enregistrés parmi les souches de *S. saprophyticus*, pour l'acide fusidique (62.50%) et le doxymycine (70.83%). C'était aussi le cas pour les souches de *M. caseolyticus* qui ont révélé un profil de résistance très important contre le céfoxitine/érythromycine (63.63%), et le clindamycine/tétracyclines (54.54%).

L'étude des facteurs de virulence quant à elle, a montré l'existence de gènes d'enterotoxines chez des espèces autres que le *S. aureus* (*S. haemolyticus*, *S. sciuri* et *M. caseolyticus*) qui nous met devant une nouvelle problématique, qui laisse penser que les toxi-infections alimentaires présumées causées par le *S. aureus*, peuvent également être la conséquence d'un autre type de staphylocoques, voir même *Macrococcus caseolyticus* ; ce qui ouvre d'autres pistes de recherche. Les gènes d'entérotoxines prédominants étaient le *Seb* pour le *S. aureus*, par contre, c'était le *see* parmi le *M. caseolyticus*. Egalement, la caractérisation moléculaire a révélé des *Staphylococcus aureus* résistantes à la méthicilline (SARM) ; avec une prévalence de 23.80% ; ce qui nous met devant un vrai danger de santé publique. Un profil moléculaire très virulent, qui vient appuyer nos résultats bactériologiques mettant en avant la zone à risque (Beraki, Hussein Dey, El Harrach).

En parallèle, nos enquêtes épidémiologiques nous ont fourni pour la première fois des informations concernant les facteurs de risque propre aux consommateurs et d'autres liés au mode de consommation. Par conséquent, nous pouvons conclure que sensibiliser et éduquer les consommateurs Algériens aux bonnes habitudes de conservation et de stockage reste la clé pour une meilleure sécurité sanitaire du consommateur. Surtout que nos résultats ont confirmé le risque accru pour les personnes vulnérables et le comportement maladroit des consommateurs quant à l'usage des antibiotiques (Automédication (52.58%), et interruption d'antibiothérapie (41.24%)) parmi les consommateurs malades et/ou hospitalisés, ce qui rend le pronostic encore plus grave.

Une situation, qui nous pousse à revoir les codes des bons usages et de bonnes pratiques, également de retracer les stratégies de veille en ce qui concerne ce type de bactérie pour, minimiser voir réduire sa propagation aussi bien dans le monde animal qu'humain, à travers une bonne éducation sanitaire et hygiénique du personnel mais aussi du consommateur afin de changer certains comportement jusqu'à là inadmissible, et arriver ainsi à une sécurité alimentaire du consommateur.

Finalement, nous pouvons conclure, que ce travail devrait permettre, au fil du temps, de mieux documenter le risque global du SARM animal pour l'homme et surtout dans le cadre de la sécurité sanitaire du consommateur. Nous pensons aussi que le risque de transmission animal-homme et aliment-homme doit être sérieusement pris en charge dans le cadre de travaux individuels. Il serait intéressant d'élaborer également des directives nationales afin de lancer des enquêtes à grande échelle, se basant sur des indicateurs du terrain dans le but d'avoir une idée sur la prévalence de contamination du SARM dans les denrées alimentaires et ce de la fourche à la fourchette, depuis l'environnement jusqu'aux consommateurs, puis étendre ces enquêtes dans un deuxième lieu à l'homme soumis aux situations de fortes expositions.

*RÉFÉRENCES
BIBLIOGRAPHIQUES*

A

AARTS, H.J., BOUMEDINE, K.S., NESME, X., CLOECKAERT, A., (2001). Molecular tools for the characterisation of antibiotic-resistant bacteria. 2001 *Vet Res.* MayAug; 32 (3-4) : 363-80.

ABAT, C., RAOULT, D., ROLAIN, J.M., (2018). Are we living in an antibiotic resistance nightmare? *Clin Microbiol Infect.* 24, 568-569.

AKKOU M., (2016). Caractérisation de *Staphylococcus aureus* isolé de mammites et impact sur les personnes à risque. Thèse de doctorat : Médecine Vétérinaire 107-pages. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie.

ALGERIAN MINISTRY OF HEALTH, (2018). Statistics on collective foodborne diseases in Algeria between 2016 and 2017. *Ministerial note.* Prevention department. Algeria.

ALY R., LEVIT S., (1987). Adherence of *Staphylococcus aureus* to Squamous Epithelium: Role of Fibronectin and Teichoic Acid. *Clinical Infectious Diseases*; 9 (Supplement 4):S341-S350. doi:10.1093/clinids/9.Supplement_4.S341.

ANANTHANA R., PANIKER, (2006) (EDS.). Textbook of Microbiology. Edition Seventh, India. 665 pages.

ANTRI K, ROUZIC N, BOUBEKRI I, DAUWALDER O, BELOUFA A, ZIANE H, DJENNANE F, NEGGAZI M, BENHABYLES B, BES M, TAZIR M, ETIENNE J & N RAMADANI-BOUGUESSA, (2010). Forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et portant le gène de la leucocidine de Panton-Valentine dans l'Algérois. *Path Biol*, 58:e15-e20

ANTUNES L.C.M., FERREIRA R.B.R., BUCKNER M.M.C., FINLAY, B.B., (2010). "Quorum sensing in bacterial virulence", *Microbiology*, 156, 2271-2282.

ARMAND-LEFEVRE L., RUIMY R., ANDREMONT A., (2005). Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis.* 11 : 711–714.

AVRIL J.L., DABARNET H., DENIS F., (2000) (EDS.). Bactériologie clinique. 3ème édition Ellipses, Paris. S.A. 8-28.

AVRIL J.L., DABARNET H., DENIS F., ONTEIL H., (1992) (EDS.). Bactériologie clinique. 2ème édition Ellipses, Paris. 9-31.

AVRIL J.L., DABERNAT H., DENIS F., MONTEIL H., (2003) (EDS.). Bactériologie clinique. 3ème édition Ellipses, Paris. 8-28. SBN 10: 2729899081

AYDIN A., SUDAGIDAN M., MURATOGLU K., (2011). Prevalence of staphylococcal enterotoxins, toxin genes and genetic-relatedness of foodborne *Staphylococcus aureus* strains isolated in the Marmara Region of Turkey. *Int J Food Microbiol* 148, 99-106.

B

BABA T, TAKEUCHI F, KURODA M, YUZAWA H, AOKI K, OGUCHI A, NAGAI Y, IWAMA N, ASANO K, NAIMI T, KURODA H, CUI L, YAMAMOTO, K. & K HIRAMATSU, (2002). Genome and virulence determinants of high virulence community-acquired MRSA. *The Lancet*, 359:1819-1827.

BARKEMA HW., SCHUKKEN YH., ZADOKS RN., (2006). Invited review: the role of cow' pathogen, and treatment regimen in the therapeutic success of bovine *Staphylococcus aureus* mastitis. *J Dairy Sci*, 89:1877-1895.

BARRIO M.B., RAINARD P., PRÉVOST G. (2006). LukM/LukF'-PV is the most active *Staphylococcus aureus* leukotoxin on bovine neutrophils. *Microbes Infect.* 8, 2068-2074.

BATARD É., EL KOURI D, POTEL G (2007). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. EMC - *Maladies infectieuses*.1-8.

BAUTISTA L., GAYA P., MEDINA M., NUNEZ M., (1988). A quantitative study of enterotoxin production by sheep milk staphylococci. *Appl. Environ. Microbiol.* 54, 2, (1988), Pp. 566-569.

BECKER K., FRIEDRICH A.W., LUBRITZ G., (2003). Prevalence of genes encoding pyrogenic toxin superantigens and exfoliative toxins among strains of *Staphylococcus aureus* isolated from blood and nasal specimens. *J Clinical Microbiology.* 41, 1434-1439.

BENITO D., GOMEZ P., LOZANO C., ESTEPA V., GOMEZ-SANZ E., ZARAZAGA M., TORRES C., (2014). Genetic lineages, antimicrobial resistance, and virulence in

Staphylococcus aureus of meat samples in Spain: analysis of immune evasion cluster (IEC) genes. *Foodborne Pathog Dis.* 11, 354-356.

BEYENE T., HAYISHE H., GIZAW F., BEYI A.F., ABUNNA F., MAMMO B., AYANA D., WAKTOLE H., ABDI R.D., (2017). Prevalence and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus* in dairy farms, abattoir and humans in Addis Ababa, Ethiopia. *BMC Res Notes* 10, 171.

BHATIA A., ZAHOOOR S., (2007). *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Journal of Clinical and Diagnostic Research.* 3:188-197.

BILLY C. (2003) (EDS.). Détection génotypique des résistances bactériennes : de la phénotypie à la génotypie, deux méthodes complémentaires Réanimation -Vol12-N3-p192_197. Éditions scientifiques et médicales Elsevier SAS. DOI: 10.1016/S1624-0693(03)00042-2.

BISWAS S., ROLAIN J.M., (2013). Use of MALDI-TOF mass spectrometry for identification of bacteria that are difficult to culture. *J Microbiol Methods.* 92, 14-24.

BLANC SD., KUHN G., ZANETTI G., (2010). Critères et méthodes de différenciation des souches In : Le Loire Y, Gautier M (EDS.), *Staphylococcus aureus*, Lavoisier, Paris, pp. 22-39.

BOUNAR-KECHIH S., (2019). *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) chez les animaux de basse-cour: Portage et sensibilité aux autres familles d'antibiotiques. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie. Thèse de Doctorat. p122.

BOURGAULT A.M., DOMINGO M.C., FORTIN A., MALOUIN F., TROESCH M., TRUDELLE A., (2014). Surveillance intégrée de la résistance aux antibiotiques. 1-51. l'Institut national de santé publique du Québec au : <http://www.inspq.qc.ca>.

BOURGEOIS C.M., MESCLE J.F., ZUCCA S., (1996) (EDS.). J.- Tome 1 : Aspect microbiologique de la sécurité alimentaire et de la qualité des aliments.- In : Lavoisier TEC & DOC (Ed), Microbiologie Alimentaire, 106-119p.

BRECHE P., Gaillard J., SIMONET M., (1988) (EDS.). Collection de la biologie à la clinique. Bactériologie Bactéries des infections humaines” Flammarion Médecine-Sciences, Paris. 267-277.

BRONNER S., MONTEIL H., PREVOST G., (2004). Regulation of virulence determinants in *Staphylococcus aureus*: complexity and applications. *FEMS Microbiol. Rev.* 28(2), 183-200. DOI: 10.1016/j.femsre.2003.09.003.

BRUN Y., BES M., (2000). *Staphylococcus*. In: FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W. ET BOLLET C. (EDS.). Précis de Bactériologie Clinique, ESKA, pp. 783-830.

BUCKINGHAM S.C., McDOUGAL L.K., CATHEY L.D., (2004). Emergence of community associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* at a Memphis, Tennessee Children's Hospital. *Pediatr. Infect. Dis. J.* 23, 619-624.

C

CAINAUD C., (2005). Les mammites sub-cliniques chez la chèvre : détection et mesures de lutte. Etude dans des élevages de la Drome. Thèse : en Médecine Vétérinaire. : Lyon.-109p.

CAN H.Y., ELMALI M., KARAGOZ A., (2017). Molecular Typing and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Strains Isolated from Raw Milk, Cheese, Minced Meat, and Chicken Meat Samples. *Korean J Food Sci Anim Resour* 37, 175-180.

CAMPBELL J.A., DICKSON J.S., CORDRAY J.C., OLSON D.G., MENDONCA A.F., PRUSA K.J., (2014). Survival of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* during thermal processing of frankfurters, summer sausage, and ham. *Foodborne Pathog Dis* 11, 50-54.

CHAALAL W., CHAALAL N., BOURAFI N., KIHAL M., DIENE S.M., ROLAIN J.M., (2018). Characterization of *Staphylococcus aureus* Isolated from Food Products in Western Algeria. *Foodborne Pathog Dis* 15, 353-360.

CHAIRAT S., GHARSA H., LOZANO C., GOMEZ-SANZ E., GOMEZ P., ZARAZAGA M., BOUDABOUS A., TORRES C., BEN SLAM K., (2015). Characterization of *Staphylococcus aureus* from Raw Meat Samples in Tunisia: Detection of Clonal Lineage ST398 from the African Continent. *Foodborne Pathog Dis* 12, 686-692.

CHAMBEAUD F., (2012). Les Staphylocoques en pathologie cutanée chez le chien: Connaissances actuelles. Thèse d'Etat de Doctorat Vétérinaire, 15 et 31-32. Université Claude-Bernard - Lyon I (Médecine - Pharmacie): Vetagro SUP Campus Vétérinaire de Lyon.

CLARK N.C., WEIGEL L.M., PATEL J.B., TENOVER F.C., (2005). Comparison of Tn1546-like elements in vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from Michigan and Pennsylvania. *Antimicrob Agents Ch*, 49(1):470-472.

COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME DE LA SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE. CASFM, (2008). Edition Janvier 208.

CONTER M., ZANARDI E., GHIDINI S., PENNISI L., VERGARA A., CAMPANINI G., IANIERI A., (2008). Consumers' behaviour toward typical Italian dry sausages. *Food Control* 19, 609-615.

COSTA W.L., FERREIRA JDOS S., CARVALHO J.S., CERQUEIRA E.S., OLIVEIRA L.C., ALMEIDA R.C., (2015). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in raw meats and prepared foods in public hospitals in Salvador, Bahia, Brazil. *J Food Sci* 80, M147-150.

COTON E., DESMONTS M.H., LEROY S., COTON M., JAMET E., CHRISTIEANS S., DONNIO P.Y., LEBERT I., TALON R., (2010). Biodiversity of coagulase-negative *Staphylococci* in French cheeses, dry fermented sausages, processing environments and clinical samples. *Int J Food Microbiol* 137, 221-229.

CUCARELLA C., SOLANO C., VALLE J., AMORENA B., LASA I., PENADES J.R., (2001). Bap, a *Staphylococcus aureus* surface protein involved in biofilm formation. *J Bacteriol*, 183(9) : 2888-2896.

CUNHA MDEL., CALSOLARI R.A., JUNIOR J.P., (2007). Detection of enterotoxin and toxic shock syndrome toxin 1 genes in *Staphylococcus*, with emphasis on coagulase negative staphylococci, *Microbiol. Immunol.* 51, 4, (2007), 381-390.

D

DE BUYSER., (1996). Les staphylocoques coagulase-positifs.- In : Lavoisier (Eds.), Techniques d'analyses et de contrôle dans les industries agro-alimentaires, chapitre 6, 305-312.

DELARRAS C. (2007) (DES.). Microbiologie pratique pour le laboratoire d'analyses ou de contrôle sanitaire. Paris: Editions Tec & Doc.

DENIS F., POLY M.C., MARTIN C., BINGEN E., QUENTIN R., (2007) (DES). Bactériologie médicale: techniques usuelles. Edition Elsevier Masson. pp 27.

DEVERRIERE B., (2007). Reproduction expérimentale de mammites à *Staphylococcus aureus* chez la brebis : comparaison de lignées génétiques divergentes pour les comptages cellulaires. Thèse de doctorat en sciences vétérinaires. L'Université Paul-Sabatier de Toulouse, France.

DINGES M.M., ORWIN P.M., SCHLIVERT P.M., (2000). Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin. Microbiol. Rev.* 13, 16–34.

DUFOUR P., GILLET Y., BES M., LINA G., VANDENESCH F., FLORET D., ETIENNE J., RICHEL H., (2002). Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections in France: emergence of a single clone that produces Panton–Valentine leukocidin. *Clinical Infectious Disease* 35, 819–824.

DUQUENNE M., (2010). Incidence de paramètres technologiques sur l'expression de gènes de production d'entérotoxines de *Staphylococcus aureus* au cours des 72h suivant l'empréssurage de lait en fabrication fromagère. Thèse de doctorat. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement. Agro Paris Tech. France.

DURUPT F., MAYOR L., BES M., REVERDY M.E., VANDENESCH F., THOMAS L., ETIENNE J., (2007). Prevalence of *Staphylococcus aureus* toxins and nasal carriage in furuncles and impetigo. *Br J. Dermatol*, 157, 1161-1170.

ED-DRA A., FILALI F.R., BOUYMAJANE A., BENHALLAM F., EL ALLAOUI A., CHAIBA A., GIARRATANA F., (2018). Antibiotic Susceptibility profile of *Staphylococcus aureus* isolated from sausages in Meknes, Morocco. *Vet World* 11, 1459-1465.

E

EL ABDANI S., (2016). Evolution de la résistance bactérienne aux antibiotiques et conseils en antibiothérapie. Thèse. p192. Université Mohammed V-Rabat.

EL KOURI D., POTTIER M.A., TREWICK D., Le GALLOU F., BARON D., et POTEL G. (1998). Infections à staphylocoques: aspects cliniques et bactériologiques. En cycle Méd.

EUROPEAN COMMISSION REGULATION (EC) 2005/2073, (2005). Microbiological Criteria for Foodstuffs of 15 November 2005. Official Journal of European Union, No. L338/1.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST) (2013). Breakpoint Tables for Interpretation of Zone Diameters (Version 1.0). Guidelines. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

EUROPEAN COMMITTEE ON ANTIMICROBIAL SUSCEPTIBILITY TESTING (EUCAST) (2017). Breakpoint Tables for Interpretation of Zone Diameters (Version 1.0). Guidelines. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

EVEILLARD M., (2007). Politique de dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline à l'admission : adaptation à la diversification des facteurs de risque de portage, conséquences de cette politique pour les indicateurs de surveillance et la transmission. Thèse de doctorat en biologie cellulaire. Université d'Angers, France.

F

FANNY V., MAHER S., PREVOST G. (2008). Les facteurs de virulence de *Staphylococcus aureus*. Institut de bactériologie. *Revue francophone des laboratoires*. 407, 61-69.

FASQUELLE R., (1974) (EDS.). Eléments de bactériologie médicale .9ème édition. Flammarion, Paris. 27-36.

FAUCHERE J.L., AVRIL J.L., (2002) (EDS.). Bactériologie générale et médicale. Ellipses, Paris. 213-217p.

FERRON A., (1985) (EDS.). Bactériologie médicale: À l'usage des étudiants en médecine, 12ème édition. CROUAN et ROQUES, Paris. 87-94p.

FIJALKOWSKI K., PEITLER D., KARAKULSKA J., (2016). *Staphylococci* isolated from ready-to-eat meat - Identification, antibiotic resistance and toxin gene profile. *Int J Food Microbiol* 238, 113-120.

FLANDROIS J.P., (1997). Bactériologie médicale. Presse Universitaire de Lyon. pp108-109.

FOSTER I.J., Mc DEVITT D., (1994). Surface-associated proteins of *S. aureus*: their possible roles in virulence. *FEMS Microbiol Lett.* 188: 199-206.

FRANCOIS P., VAUDAUX P., FOSTER T.J., PLEW D., (1997). Facteurs d'attachement au fibrinogène. *Méd. Mal. Infect.* 27, 9-143.

FRENEY J., RENAUD F., HANSEN W., BOLLET C., (2007) (EDS.). Précis de bactériologie clinique. pp. 783-830. Paris: Éd. ESKA ISBN : 978-2-7472-1159-8.

G

GARRY P., JUIN A., (2010). *Staphylococcus aureus* - état des lieux dans la filière porcine. In. antenne maisons Alfort, antenne renne, antenne toulouse, p. 6 et 7.

GERARD L., CATTOIR V., (2014). Les bactéries à Gram positives multirésistantes : probabilités de résistance ? Que craindre ? Equipe Pathogénie des staphylocoques, Université Lyon 1 (CNR). *Bull. Acad. Natle Méd.*

GILLET Y., ISSARTEL B., VANHEMS P., et al., (2002). Association between *Staphylococcus aureus* strains carrying gene for Panton-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 359, 753-759.

GOERKE C., PANTUCEK R., HOLTFRETER S., SCHULTE B., ZINK M., GRUMANN D., BROKER B.M., DOSKAR J., WOLZ C., (2009). Diversity of prophages in dominant *Staphylococcus aureus* clonal lineages. *J Bacteriol*, 191(11):3462-8.

GOERKE C., WIRTZ C., FLÜCKIGER U., WOLZ C., (2006). Extensive phage dynamics in *Staphylococcus aureus* contributes to adaptation to the human host during infection. *Mol Microbiol*, 61:1673-1685.

GONZALEZ-FANDOS M.E., SIERRA M., GARCIA-LOPEZ M.L., GARCIA-FERNANDEZ M.C., OTERO A., (1999). The influence of manufacturing and drying conditions on the survival and toxinogenesis of *Staphylococcus aureus* in two spanish dry sausages (chorizo and salchichon). *Meat Sci* 52, 411-419.

GRAS D., (2006). Etude des interactions entre les cellules épithéliales respiratoires humaines normales et mucoviscidiques et *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat: Université de REIMS Champagne Ardenne U.F.R. de médecine. 185.

GREENFIELD R.A., BROWN B.R., HUTCHINS J.B., IANDOLO J.J., JACKSON R., SLATER I.N., BRONZE M.S., (2002). Microbiological, biological, and chemical weapons of warfare and terrorism. *Am J Med Sci* 323(6). 326-40.

GUINANE C.M., STURDEVANT D.E., HERRON-OLSON L., OTTO M., SMYTH D.S., VILLARUZ A.E., KAPUR V., HARTIGAN P.J., SMYTH C.J., FITZGERALD J.R., (2008). Pathogenomic analysis of the common Bovine *Staphylococcus aureus* clone (ET3): Emergence of a virulent subtype with potential risk to public health. *J Infect Dis*, 197(2):205-213.

GUIRAUD J., ROSEC J. (2004) (EDS.). Pratique des normes en microbiologie alimentaire. Saint-Denis La Plaine: AFNOR 2004. 168-178.

H

HACHEMI A., ZENIA S., DENIA M.F., GUESSOUM M., HACHEMI M.M., AIT- OUDHIA K., (2019). Epidemiological study of sausage in Algeria: Prevalence, quality assessment, and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolates and the risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning. *Vet World* 12, 1240-1250.

HAENNI M., LUPO A., MADEC J.Y., (2018). Antimicrobial Resistance in *Streptococcus spp.* *Microbiol Spectr* 6.

HERMANS K., DEVRIESE L.A., HAESBROUCK F., (2010). *Staphylococcus*. In: GYLES C.L., PRESCOTT J.F., SONGER G. ET THOEN C.O. (EDS.). Pathogenesis of Bacterial Infections in Animals, 4th Edition, Wiley-Blackwell, pp. 75-89.

HIRON A., (2007). Les transporteurs de peptides de *Staphylococcus aureus*. Thèse de doctorat en Microbiologie. Institut des Sciences et Industries du Vivant et de l'Environnement (Agro Paris Tech). Paris. France.

HOLDEN MTG., FEIL E.J., LINDSAY J.A., PEACOCK S.J., DAY N.P.J, ENRIGHT M.C., FOSTER T.J., MOORE C.E., HURST L., ATKIN R., BARRON A., BASON N., BENTLEY S.D., CHILLINGWORTH C., CHILLINGWORTH T., CHURCHER C., CLARK L., CORTON C., CRONIN A., DOGGETT J., DOWD L., et al. , (2004). Complete genomes of two clinical *Staphylococcus aureus* strains: Evidence for the rapid evolution of virulence and drug resistance. *P Nat Acad Sci USA*, 101(26):9786-9791.

HOSSEINZADEH S., DASTMALCHI SAEI H., (2019). Staphylococcal species associated with bovine mastitis in the North West of Iran: Emerging of coagulase-negative staphylococci. *International Journal of Veterinary Science and Medicine* 2, 27-34.

HOWDEN BP., DAVIES K., JOHNSON PDR., STINEAR TP., LINDSAY M. GRAYSON, (2010). Reduced vancomycin susceptibility in *Staphylococcus aureus*, including vancomycin-intermediate and heterogeneous vancomycin-intermediate strains: resistance mechanisms, laboratory detection, and clinical implications. *Clin Microbiol Rev*, 23(1):99-139.

I

ISAAC-BUDJU, L. (2010). Analyses bactériologiques des saucissons vendus dans les alimentations de la ville de kisangani dans la commune Makiso. Mémoire. 3.

ISO 6888-1. (1999). Microbiology of Food and Animal Feeding Stuffs-horizontal Method for the Enumeration of Coagulase-positive Staphylococci (*Staphylococcus aureus* and other Species): Part 1: Technique Using Baird- Parker Agar Medium. International Organisation for Standardisation, Geneva, Switzerland.

ITO T, MA XX, TAKEUCHI F, OKUMA K, YUZAWA H & K HIRAMATSU, (2004). Novel type V staphylococcal cassette chromosome mec driven by a novel cassette chromosome recombinase, ccrC. *Antimicrob Agents Chemother*, 48: 2637-2651.

J

JACKSON C.R., DAVIS J.A., BARRETT J.B., (2013). Prevalence and characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from retail meat and humans in Georgia. *J Clin Microbiol* 51, 1199-1207.

JANSEN W., WOULDSTRA S., MULLER A., GRABOWSKI N., SCHOO G., GERULAT B., KLEIN G., KEHRENBURG C., (2018). The safety and quality of pork and poultry meat imports for the common European market received at border inspection post Hamburg Harbour between 2014 and 2015. *PLoS One*. 13, e0192550.

JARRAUD S., PEYRAT M.A., LIM A., TRISTAN A., BES M., MOUGEL C., ETIENNE J., VANDENESCH F., BONNEVILLE M., LINA G., (2001). egc, a highly prevalent operon of enterotoxin gene, forms a putative nursery of superantigens in *Staphylococcus aureus*. *J Immunol*, 166: 669-677.

JIANG B., YOU B., TAN L., YU S., LI H., BAI G., LI S., RAO X., XIE Z., SHI X., PENG Y., HU X., (2018). Clinical *Staphylococcus argenteus* Develops to Small Colony Variants to Promote Persistent Infection. *Front Microbiol* 9, 1347.

JIN T., BOKAREWA M., McLNTYRE L., TARKOWSKI A., COREY G.R., RELLER L.B., FOWLER V.G., (2003). Fatal outcome of bacteraemic patients caused by infection with staphylokinase deficient *Staphylococcus aureus* strains. *Journal of Medical Microbiology* 52, 919–923.

JOUY E., LE ROUX A., TOCQUEVILLE V., GRANIER S.A., DE BUYSER M.L., BRISABOIS A., SANDERS P., KEMPF I., KOBISH M., CHAUVIN C., (2008). Prévalence du portage de SARM par les porcs à l'abattoir. In Comptes rendus du Congrès RICAI, 4-5 décembre 2008, Paris. *Bull. Acad. Vét.* Tome 163 - N°3 www.academie-veterinaire-france.fr

K

KAPRAL FA., SMITH S., LAL D., (1992). The esterification of fatty acids by *Staphylococcus aureus* fatty acid modifying enzyme (FAME) and its inhibition by glycerides. *J Med Microbiol*; 37(4):235–237. DOI: 10.1099/00222615-37-4-235.

KARTHIK S., (2007) (EDS.). Role of MSA in the regulation of virulence and biofilm formation. The University of Southern Mississippi. Edition UMI Microform USA. pp 20-24.

KASSAHUN M., WONGIEL S., (2019). Food poisoning outbreak investigation in Dewachefa woreda, Oromia Zone, Amhara Region, Ethiopia, 2018. *BMC Res Notes*. 12, 377.

KATAYAMA Y., ITO T., HIRAMATSU K., (2000). A new class of genetic element, *Staphylococcus cassette chromosome mec*, encodes methicillin resistance in *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Ch*, 44(6):1549-1555.

KHAMBATY F.M., BENNETT R.W., SHAH D.B., (1994). Application of pulse field gel electrophoresis to the epidemiological characterization of *Staphylococcus intermedius* implicated in a food-related outbreak. *Epidemiol. Infect.* 113, (1994), 75-81.

KHAN SA, (2005). Plasmid rolling-circle replication: highlights of two decades of research. *Plasmid*, 53:126-136.

KIM Y.B., SEO K.W., JEON H.Y., LIM S.K., LEE Y.J., (2018). Characteristics of the antimicrobial resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chicken meat produced by different integrated broiler operations in Korea. *Poult Sci* 97, 962-969.

KLOOS W.E., ZIMMERMAN R.J., SMITH R.F., (1975). Preliminary studies on the characterization and distribution of *Staphylococcus* and *Micrococcus* species on animal skin. *Applied and Environmental Microbiology* 78 (2-1): 155-170.

KRZIWANEK K., METZ-GERCEK S., MITTERMAYER H., (2009). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* ST398 from human patients, upper Austria. *Emerg Infect Dis.* 15: 766–769.

KUMAR R., SURENDRAN P.K., THAMPURAN N., (2009). Detection and characterization of virulence factors in lactose positive and lactose negative *Salmonella* serovars isolated from seafood. *Food Control*; 20(4):376–380.

KURODA M., OHTA T., UCHIYAMA I., BABA T., YUZAWA H., KOBAYASHI I., CUI L., OGUCHI A., AOKI K., NAGAI Y., LIAN J., ITO T., KANAMORI M., MATSUMARU H., MARUYAMA A., MURAKAMI H., et al., (2001). Whole genome sequencing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet* 357:1225-1240.

KWAN T., LIU J., DUBOW M., GROS P., PELLETIER J., (2005). The complete genomes and proteomes of 27 *Staphylococcus aureus* bacteriophages. *P Nat Acad Sci USA*, 102 (14):5174-5179.

L

LAKHUNDI S., ZHANG K., (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clin Microbiol Rev* 31.

LE LOIR Y., GAUTIER M., (2010) (EDS.). *Staphylococcus aureus*. Lavoisier; 2010. ISBN: 978-2-7430-1195-6. ISSN :1625-9319.

LE LOIRE Y., BARON F., GAUTIER M., (2003). *Staphylococcus aureus* and food poisoning. *Genet. Mol. Res.* 2 : 63-76.

LE MINOR L., VERON M., (1990) (EDS.). Bactériologie Médicale «*Staphylococcus* et *Micrococcus*». J. Fleurette 2ème édition. Flammarion. Médecine-Sciences, Paris. 773-794.

LEE SM., ENDER M., ADHIKARI R., SMITH J.M., BERGER-BÄCHI B., COOK GM., (2007). Fitness cost of staphylococcal cassette chromosome *mec* in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* by way of continuous culture. *Antimicrob Agents Chemother*, 51:1497-1499.

LEROY S., GIAMMARINARO P., CHACORNAC J.P., LEBERT I., TALON R., (2010). Biodiversity of indigenous *staphylococci* of naturally fermented dry sausages and manufacturing environments of small-scale processing units. *Food Microbiol* 27, 294-301.

LINDSAY J.A., HOLDEN MTG., (2006). Understanding the rise of the superbug: investigation of the evolution and genomic variation of *Staphylococcus aureus*. *Funct Integr Genomics*, 6 (3):186-201.

LINDSAY J.A., (2008). *S. aureus* Evolution: Lineages and Mobile Genetic Elements (MGEs). In: *Staphylococcus: Molecular Genetics*. J. A. Lindsay (EDS.). Norfolk, UK: Caister Academic Press.

LINDSAY J.A., (2010). Genomic variation and evolution of *Staphylococcus aureus*. *Int J Med Microbiol* 300(2-3):98-103.

LINDSAY J.A., MOORE C.E., DAY N.P., PEACOCK S.J., WITNEY A.A., STABLER R.A., HUSAIN S.E., BUTCHER P.D. HINDS J., (2006). Microarrays reveal that each of the ten dominant lineages of *Staphylococcus aureus* has a unique combination of surface-associated and regulatory genes. *J Bacteriol*, 188 (2):669-676.

LIU C., WANG D., DENG Z., TANG Y., ZHANG X., (2019). Determinants of antibiotic prescribing behaviors of primary care physicians in Hubei of China: a structural equation model based on the theory of planned behavior. *Antimicrob Resist Infect Control* 8, 23.

LOWY F.D., (1998). *Staphylococcus aureus* infection. *New England Journal Medicine* 339, 520–532.

LUZZAGO C., LOCATELLI C., FRANCO A, SCACCABAROZZI L., GUALDI V., VIGANO R., et al. (2014). Clonal diversity, virulence-associated genes and antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolates from nasal cavities and soft tissue infections in wild ruminants in Italian Alps. *Vet Microbiol.* 2014; 170 (1-2):157–61.

M

MAGRAS C., LAROCHE M., FOSS J. (2009). Sécurité microbiologique des viandes: Quels apports pour une meilleure maîtrise? *Bull. Acad. Vét.* Tome 162- N°4/5, 349-355.

MAMA O.M., DIENG M., HANNE B., RUIZ-RIPA L., DIOP C.G.M., TORRES C., (2019). Genetic characterisation of *staphylococci* of food-producing animals in Senegal. PVL detection among MSSA. *BMC Vet Res* 15, 391.

MARION G., (2013). Mise au point d'un protocole d'inoculation intra-mammaire avec *staphylococcus aureus* visant à comparer la sensibilité de deux lignées de souris. Thèse de doctorat. p. 227. Ecole Vétérinaire de Toulouse, France.

MARTINEAU F., PICARD F.J, LANSAC N., MENARD C., ROY P.H., OUELLETTE M., BERGERON M. G., (2000). Correlation between the Resistance Genotype Determined by Multiplex PCR Assays and the Antibiotic Susceptibility Patterns of *Staphylococcus aureus* and *Staphylococcus epidermidis*. *Antimicrob Agents Chemother*; 44(2): 231–238.

MARTINS P.D., DE ALMEIDA T.T., BASSO A.P., DE MOURA T.M., FRAZZON J., TONDO, E.C., FRAZZON A.P., (2013). Coagulase-positive *staphylococci* isolated from chicken meat: pathogenic potential and vancomycin resistance. *Foodborne Pathog Dis* 10, 771-776.

MEBKHOUT F., (2019). Isolement et caractérisation des souches de *Staphylococcus aureus* (SARM/SASM) isolées à partir de carcasses de volaille. Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire d'Alger, Algérie. Thèse de Doctorat. P137.

MCCARTHY N.L., SULLIVAN P.S., GAYNES R., RIMLAND D., (2010). Health care-associated and community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* infections: a comparison of definitions. *Am J Infect Control*, 38:600-606.

MCSHAN W.M., FERRETTI J.J., (2007). Prophages and their contribution to host cell phenotype. In *Bacteriophage: Genetics and Molecular Biology*. MCGRATH S., VAN D., SINDEREN (EDS). Norfolk, UK: Caister Academic Press.

MERLET A., (2010). Implication de la leucocidine de Panton et Valentine dans les infections sévères à *Staphylococcus aureus* en Nouvelle-Calédonie. Thèse de doctorat. p117. Université Bordeaux 2 des sciences médicales.

MLAGA K.D., DUBOURG G., ABAT C., CHAUDET H., LOTTE L., DIENE S.M., RAOULT D., RUIMY R., ROLAIN J.M., (2017). Using MALDI-TOF MS typing method to decipher outbreak: the case of *Staphylococcus saprophyticus* causing urinary tract infections (UTIs) in Marseille, France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 36, 2371-2377.

MOORE P.C.L., LINDSAY J.A., (2001). Genetic variation among hospital isolates of methicillin sensitive *Staphylococcus aureus*: evidence for horizontal transfer of virulence genes. *J Clin Microbiol*, 39:2760-2767.

MOTAMEDI H., E.D., M. GHOLIPOUR AND S.M. SEYYED NEJAD, (2010). Antibacterial Effect of Ethanolic and Methanolic Extracts of *Plantago ovata* and *Olivaria decumbens* Endemic in Iran Against Some Pathogenic Bacteria. *International Journal of Pharmacology* 6, 117-122.

MURRAY P.R., ROSENTHAL K.S., PFALLER M.A., (2009) (EDS.). Medical Microbiology. Elsevier Health Sciences. pp 214.

N

NAUCIEL C., (2005) (EDS.). Abrèges connaissances et pratique « Bactériologie médicale ». 2^{ème} édition. MASSON, Paris. 83-85.6-Nauciel C, Vildé J. Bactériologie médicale.

NEHAL M., ZUEL-FAKKAR M.D., MONA H., EL-SHOKRY M.D., (2010). Study of Erythroder and Psoriasis Exacerbation by Staphylococcal Superantigens. *J. Egypt Women Dermatol. Soc.*7, 113-117.

NISHIFUJI K., SUGAI M., AMAGAI M., (2008). Staphylococcal exfoliative toxins: molecular scissors of bacteria that attack the cutaneous defense barrier in mammals. *Journal of Dermatological Science* 49, (2008), 21-31.

NORMANNO G., CORRENTE M., LA SALANDRA G., DAMBROSIO A., QUAGLIA N.C., PARISI A., GRECO G., BELLACICCO A.L., VIRGILIO S., CELANO G.V., (2007). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in foods of animal origin product in Italy. *Int J Food Microbiol* 117, 219-222.

NOUWEN J.L., FIEREN M.W., SNIJDERS S., VERBRUGH H.A., VAN BELKUN A., (2005). Persistent (not intermittent) nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is the determinant of CPD-related infections. *Kidney Int*, 67:1084-92.

O

O'NEILL AJ., LARSEN AR., SKOV R., HENRIKSEN AS., CHOPRA I., (2007). Characterization of the epidemic European fusidic acid-resistant impetigo clone of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, 45:1505-1510.

O'RIORDAN K., LEE J.C., (2004). *Staphylococcus aureus* capsular polysaccharides. *Clin. Microbiol. Rev.* 17, 218-34.

OCHMAN H., LAWRENCE J.G., GROISMAN E.A., (2000). Lateral gene transfer and the nature of bacterial innovation. *Nature*, 405(6784):299-304.

ODETOKUN I.A., BALLHAUSEN B., ADETUNJI V.O., GHALI-MOHAMMED I., ADELOWO M.T., ADETUNJI S.A., FETSCH A., (2018). *Staphylococcus aureus* in two municipal abattoirs in Nigeria: Risk perception, spread and public health implications. *Vet Microbiol* 216, 52-59.

ODEYEMI O.A., (2016). Antibiotic resistance and burden of foodborne diseases in developing countries. *Future Science* 2, 4.

OFFICIAL JOURNAL OF THE ALGERIAN REPUBLIC (2016). Interministerial decree: The Microbiological Criteria Regarding Foodstuffs of 04 October 2016. N° 39.

OMOE KHD., ONO H.K., SHIMIZU S., TAKAHASHI-OMOE H., NAKANE A., UCHIYAMA T., SHINAGAWA K., IMANISHIG K., (2013). Emetic Potentials of Newly Identified Staphylococcal Enterotoxin-Like Toxins. *Infection and Immunity* 81, 3627–3631.

O'SEAGHDHA M., SCHOOTEN C.J., KERRIGAN S.W., EMSLEY J., SILVERMAN G.J., COX D., LENTING P.J., FOSTER T.J., (2006). *Staphylococcus aureus* protein A binding to von Willebrand factor A1 domain is mediated by conserved IgG binding regions. *The FEBS Journal*, 273, (2006), 4831-4841.

OUBEKKA S.D., (2012). Dynamique réactionnelle d'antibiotiques au sein des biofilms de *Staphylococcus aureus* : apport de la microscopie de fluorescence multimodale. Thèse de doctorat. Ecole Doctorale Agriculture, Alimentation, Biologie, Environnement, Santé. Paris 1. p190.

OUOBA LII., VOUIDIBIO MBOZO A.B., ANYOGU A., OBIOHA PI., LINGANI-SAWADOGO H., SUTHERLAND J.P., JESPERSEN L., GHODDUSI H.B., (2019). Environmental heterogeneity of *Staphylococcus* species from alkaline fermented foods and associated toxins and antimicrobial resistance genetic elements. *Int J Food Microbiol* 311, 108356. DOI: 10.1016/j.ijfoodmicro

P

PENDA S., (1994). Contribution à l'étude de la qualité microbiologique et commerciale des Merguez vendues sur le marché Dakarois. Thèse de Doctorat. p81. Faculté de Médecine et de Pharmacie de Dakar, Sénégal.

PEREZ P., (2013). Typage de *Staphylococcus aureus* par MLVA: Etude de faisabilité de la détection par HRM. Thèse de doctorat, p131. Ecole du Val de Grâce – Paris, France.

PESAVENTO G., DUCCI B., COMODO N., NOSTRO A.L., (2007). Antimicrobial resistance profile of *Staphylococcus aureus* isolated from raw meat: A research for methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Food Control* 18, 196-200.

PETON V., LE LOIR Y., (2014). *Staphylococcus aureus* in veterinary medicine. *Infect Genet Evol.* 21: 602–15.

PHONIMDAENG P., O'REILLY M., NOWLAN P., BRAMLEY A.J., FOSTER T.J., (1990). The coagulase of *Staphylococcus aureus* Sequence analysis and virulence of site-specific coagulase deficient mutants. *Mol. Microbiol.* 4: 393-404.

POHLMANN-DIETZE P., ULRICH M., KISER K., DORING G., LEE J., FOURNIER J., BOTZENHART K., WOLZ C., (2000). Adherence of *Staphylococcus aureus* to endothelial cells: influence of capsular polysaccharide, global regulator *agr*, and bacterial growth phase. *Infect. Immun* 68, 4865-4871.

PROCTOR R.A., VON EIFF C., KAHL B.C., BECKER K., MCNAMARA P., HERRMANN M., PETERS G., (2006). Small colony variants: a pathogenic form of bacteria that facilitates persistent and recurrent infections. *Nat. Microb. Rev.* 4, 295–305.

PU S., WANG F., GE B., (2010). Characterization of Toxin Genes and Antimicrobial Susceptibility of *Staphylococcus aureus* Isolates from Louisiana Retail Meats. *Foodborne Pathogens and Disease* 8, 299-306.

Q

QUINN P.J., MARKEY B.K., LEONARD F.C., FITZ PATRICK E.S., FANNING S., HARTIGAN P.J., (2011) (EDS.). *Staphylococcus* species, Veterinary Microbiology and Microbial Disease, Wiley-Blackwell, USA, 2ème Edition. p179.

R

RAINARD P., CORRALES J.C., BARRIO M.B., COCHARD T., POUTREL B., (2003). Leucotoxigenic activities of *Staphylococcus aureus* strains isolated from cows, ewes, and goats with mastitis: Importance of *LukM/LukF'-PV* leukotoxin. *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 10, 272–277.

RAKANSOU D., (2008). Contribution à l'étude des caractéristiques de la qualité des produits carnés commercialisés sur le marché dakarais: Cas du jambon. Thèse de Doctorat. Faculté de Médecine, de Pharmacie et d'Odontostomatologie de Dakar, Sénégal.

RAMDANI-BOUGUESSA N., BES M., MEUGNIER H., FROEY F., REVERDY ME., LINA G., VANDENESH F., TAZIR M., ETIENNE J., (2006). Detection of methicillin-

resistant *Staphylococcus aureus* strains resistant to multiple antibiotics and carrying *Panto-Valentine leukeucidin* genes in an Algiers hospital. *Antimicrob Agents Chemother*, 50(3):1083-1085.

RISLEY A., LOUGH MAN A., CYWES -BENTLEY C., FOSTER T., LEE J. (2007) Capsular polysaccharide masks clumping factor A-mediated adherence of *Staphylococcus aureus* to fibrinogen and platelets. *J. Infect. Dis.* 196, 919-927.

ROBINSON D.A., ENRIGHT M.C., (2003). Evolutionary models of the emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother.* 47(12):3926-34.

RODRIGUES M.X., SILVA NCC., TREVILIN J.H., CRUZADO M.M.B., MUI T.S., DUARTE F.R.S., CASTILLO C.J.C., CANNIATTI-BRAZACA S.G., PORTO E., (2017). Molecular characterization and antibiotic resistance of *Staphylococcus* spp. isolated from cheese processing plants. *J Dairy Sci* 100, 5167-5175.

ROUSSEL S., FELIX B., VINGADASSALON N., GROUT J., HENNEKINNE J.A., GUILLIER L., BRISABOIS A., AUVRAY F., (2015). *Staphylococcus aureus* strains associated with food poisoning outbreaks in France: comparison of different molecular typing methods, including MLVA. *Front Microbiol* 6, 882.

S

SAFARPOOR DEHKORDI F., GANDOMI H., BASTI A.A., MISAGHI A., RAHIMI E., (2017). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from hospital food. *Antimicrob Resist Infect Control* 6, 104.

SANCAK B., ERCIS S., MENEMENLIOGLU D., COLAKOGLU S., HASCELIK G., (2005). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* heterogeneously resistant to vancomycin in a Turkish university hospital. *J Antimicrob Ch*, 56:519-523.

SCHLEIFER K., (1983). The cell envelope. In *Staphylococci and Staphylococcal infections*, CSF Easmon and C. Adlam (EDS.), Vol.2, Academic Press, London. 385- 428.

SCHWENDENER S., NIGG A., COLLAUD A., OVERESCH G., KITTL S., PHUMTHANAKORN N., PERRETEN V., (2019). Typing of *mecD* Islands in Genetically

Diverse Methicillin-Resistant *Micrococcus caseolyticus* Strains from Cattle. *Appl Environ Microbiol* 85.

SCHWENDENER S., PERRETEN V., (2018). The integrase of the *Micrococcus caseolyticus* resistance island *mecD* (*McRI_{mecD}*) inserts DNA site-specifically into *Staphylococcus* and *Bacillus* chromosomes. *Mol Microbiol* 110, 455-468.

SENG P., DRANCOURT M., GOURIET F., LA SCOLA B., FOURNIER P.E., ROLAIN J.M., RAOULT D., (2009). Ongoing revolution in bacteriology: routine identification of bacteria by matrix-assisted laser desorption ionization time-of-flight mass spectrometry. *Clin Infect Dis* 49, 543-551.

SENG P., ROLAIN J.M., FOURNIER PE., LA SCOLA B., DRANCOURT M., RAOULT D., (2010). MALDI-TOF-mass spectrometry applications in clinical microbiology. *Future Microbiol.* 5, 1733-1754.

SERDELIDIS D., ANGELIDIS A.S., (2017). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: a controversial food-borne pathogen. *Lett Appl Microbiol* 64, 409-418.

SERDELIDIS D., PAPADOPOULOS T., KOMODROMOS D., SERDELIDOU E., LAZOU T., PAPAGIANNI M., ZDRAGAS A., PAPA A., (2015). Isolation of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from small ruminants and their meat at slaughter and retail level in Greece. *Lett Appl Microbiol* 61, 498-503.

SHAWISH R., AL-HUMAM N., (2016). Contamination of beef products with staphylococcal classical enterotoxins in Egypt and Saudi Arabia. *GMS Hygiene and Infection Control* 11.

SHORE A.C., COLEMAN D.C., (2013). Staphylococcal cassette chromosome *mec*: recent advances and new insights. *Int J Med Microbiol* 303, 350-359.

SIMON S.S., SANJEEV S., (2007). Prevalence of enterotoxigenic *Staphylococcus aureus* in fishery products and fish processing factory workers. *Food Control* 18, 1565-1568.

SMITH T.C., PEARSON N., (2011). The emergence of *Staphylococcus aureus* ST398. *Vector Borne Zoonotic Dis*, 11(4):327-339.

SNYDER HL., NIEBUHR S.E., DICKSON J.S., (2013). Transfer of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from retail pork products onto food contact surfaces and the potential for consumer exposure. *J Food Prot* 76, 2087-2092.

SOARES CASAES NUNES R., MERE DEL AGUILA E., PASCHOALIN V.M., (2015). Safety Evaluation of the Coagulase-Negative *Staphylococci* Microbiota of Salami: Superantigenic Toxin Production and Antimicrobial Resistance. *Biomed Res Int* 2015, 483548.

SPICER WJ., (2003) (EDS.). Pratique clinique en bactériologie mycologie et parasitologie. LAVOISIER Edition Médecine Sciences Publications 221 pages. ISBN-10 : 2257104099

STEPAN J., PANTUCEK R., DOSKAR J., (2004). Molecular diagnostics of clinically important *Staphylococci*. *Folia Microbio*. 49:353-386.

STEPHEN H. G., HAWKEY P. M. (2006) (EDS.). Principles and practice of clinical bacteriology. 2ème Edition. Birmingham, John Wiley and Sons. pp 73-86

STROMMINGER B., KETTLITZ C., WERNER G., WITTE W., (2003). Multiplex PCR assay for simultaneous detection of nine clinically relevant antibiotic resistance genes in *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 41(9). 4089-4094.

SUBEDI A., UBEDA C., ADHIKARI RP., PENADES JR., NOVICK RP., (2007). Sequence analysis reveals genetic exchanges and intraspecific spread of *SaPI2*, a pathogenicity island involved in menstrual toxic shock. *Microbiol*, 153(10):3235-3245.

SUZUKI Y., KUBOTA H., ONO H.K., KOBAYASHI M., MURAUCHI K., KATO R., HIRAI A., SADAMASU K., (2017). Food poisoning outbreak in Tokyo, Japan caused by *Staphylococcus argenteus*. *Int J Food Microbiol* 262, 31-37.

T

THAKKER M., PARK J., CAREY V., LEE J., (1998). *Staphylococcus aureus* serotype 5 capsular polysaccharide is antiphagocytic and enhances bacterial virulence in murine bacteremia model. *Infect. Immun*. 66 5183-5189.

THAPALIYA D., FORSHEY B.M., KADARIYA J., QUICK M.K., FARINA S., O'BRIEN A., NAIR R., NWORIE A., HANSON B., KATES A., WARDYN S., SMITH TC.

(2017). Prevalence and molecular characterization of *Staphylococcus aureus* in commercially available meat over a one-year period in Iowa, USA. *Food Microbiol* 65, 122-129.

THOMAS D., CHOUS DAUWALDER O., LINA G., (2007). Diversity in *Staphylococcus aureus* enterotoxins. *Chem. Immunol. Allergy* 93, 24-41.

TODAR K., (2005), (EDS.). *Staphylococcus aureus*. *Todar's online Textbook of Bacteriology*. <http://www.textbookofbacteriology.net> (Consulté le 26 Novembre 2018).

TODAR K., (2009). *Staphylococcus aureus*. *Todar's online Textbook of Bacteriology*. <http://www.textbookofbacteriology.net>. (Consulté le 27 Novembre 2018).

TONG S.Y.C., SCHAUMBURG F., ELLINGTON M. J., CORANDER J., PICHON B., LEENDERTZ F., BENTLEY S.D., PARKHILL J., HOLT D.C., (2015). Novel staphylococcal species that form part of a *Staphylococcus aureus*-related complex: the non-pigmented *Staphylococcus argenteus* sp. nov. and the non-human primate-associated *Staphylococcus schweitzeri* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology*. 65 (Pt1):15–22. DOI:10.1099/ij.s.0.062752-0.

U

UNITED-NATIONS, (2019). World Population Prospects Highlights. Department of Economic and Social Affairs, 46.

V

VANDENESCH F., (1997). Régulation de l'expression des exoprotéines de *Staphylococcus aureus*. *Médecine et Maladies Infectieuses*. 27(4) 150-158. DOI:10.1016/S0399-077X(97)80014-5

VANDENESCH F., LAURENT F., TRISTAN A., (2017). Rapport d'activité du Centre de national de référence des staphylocoques pour l'année 2016 du des Staphylocoques. pp1-98 <http://spiralconnect.univ-lyon1.fr/spiral-files/download?mode=inline&data=7450583> (Consulté le 07 Octobre 2018).

VANDENESCH F., LINA G., HENRY T., (2012). *Staphylococcus aureus* Hemolysins, bicomponent Leukocidins, and Cytolytic Peptides: A Redundant Arsenal of Membrane-Damaging Virulence Factors, *Front Cell Infect Microbiol.* 2(12) DOI: 10.3389/fcimb.2012.00012.

VANDERHAEGHEN W., HERMANS K., HAESBROUCK F., BUTAYE P., (2010). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in food production animals. *Epidemiol Infect*, 138:606-625.

VELASCO V., VERGARA J.L., BONILLA A.M., MUNOZ J., MALLEA A., VALLEJOS D., QUEZADA-AGUILUZ M., CAMPOS J., ROJAS-GARCIA P., (2018). Prevalence and Characterization of *Staphylococcus aureus* Strains in the Pork Chain Supply in Chile. *Foodborne Pathog Dis* 15, 262-268.

VERAS J. F., DO CARMO L.S., TONG L.C., SHUPP J.W., CUMMINGS C., DOS SANTOS D.A., CERQUEIRA M.M., CANTINI A., NICOLI J.R., JETT M., (2008). A study of the enterotoxigenicity of coagulase-negative and coagulase-positive *Staphylococcal* isolates from food poisoning outbreaks in Minas Gerais, Brazil, *Int. J. Infect. Dis.*, 12, 4, (2008), 410-415.

W

WAKABAYASHI Y., UMEDA K., YONOGI S., NAKAMURA H., YAMAMOTO K., KUMEDA Y., KAWATSU K., (2018). *Staphylococcal* food poisoning caused by *Staphylococcus argenteus* harboring *staphylococcal* enterotoxin genes. *Int J Food Microbiol* 265, 23-29.

WALKER-YORK-MOORE L., MOORE S.C., FOX E.M., (2017). Characterization of Enterotoxigenic *Bacillus cereus* sensu lato and *Staphylococcus aureus* Isolates and Associated Enterotoxin Production Dynamics in Milk or Meat-Based Broth. *Toxins (Basel)*. 9 (07).

WALSH T.R., HOW R.A., (2002). The prevalence and mechanisms of vancomycin resistant in *Staphylococcus aureus*. *Microbiol.* 56: p.657-675.

WANG W., BALOCH Z., JIANG T., ZHANG C., PENG Z., LI F., FANNING S., MA A., XU J., (2017). Enterotoxigenicity and Antimicrobial Resistance of *Staphylococcus aureus* Isolated from Retail Food in China. *Front Microbiol* 8, 2256.

WHO (2015). Estimates of the Global Burden of Foodborne Diseases. *In*, News release. Word Health Organization.

WILLIAM J.G., (2009). Assessing pediatric nasal carriage of *Staphylococcus aureus* and MRSA. Thèse in Epidemiology & Disease Control. The University of School of Public Health. Texas.

Y

YARWOOD J.M., MCCORMICK J.K., PAUSTIAN M.L., ORWIN P.M., KAPUR V., SCHLIEVERT PM., (2002). Characterization and expression analysis of *Staphylococcus aureus* pathogenicity Island3. implications for the evolution of staphylococcal pathogenicity islands. *J Biol Chem*, 277(15): 13138-13147.

YOUGBARE B., (2014). Appréciation des risques de contamination microbienne de la viande de petits ruminants dans les abattoirs et dibiteries de Dakar, Sénégal. Mémoire de Master. Ecole Inter-états des sciences et de Médecine Vétérinaires de Dakar, Sénégal.

Z

ZELL C., RESCH M., ROSENSTEIN R., ALBRECHT T., HERTEL C., GOTZ F., (2008). Characterization of toxin production of coagulase-negative Staphylococci isolated from food and starter cultures. *Int. J. Food Microbiol.* 127, 3, (2008), 246-251.

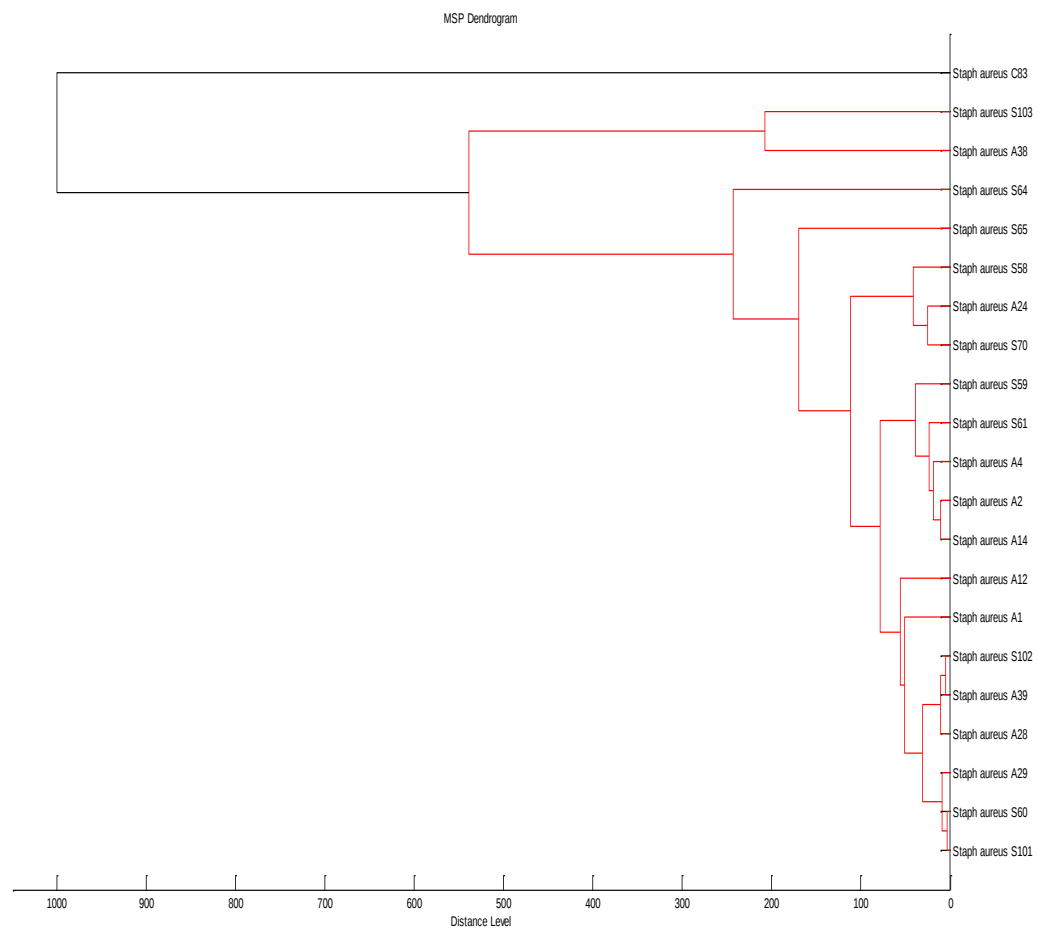
ZHANG Y., SUYUN C., DING G., ZHU M., XUEXIA PAN, ZHANG L., (2001). Molecular analysis and antibiotic resistance investigation of *Staphylococcus aureus* isolates associated with staphylococcal food poisoning and nosocomial infections. *African Journal of Biotechnology* 10 (15), 2965-2972.

ZHANG J., SUO Y., ZHANG D., JIN F., ZHAO H., SHI C., (2018). Genetic and virulent difference between pigmented and non-pigmented *Staphylococcus aureus*. *Front Microbiol* 9, 598.

ANNEXES

ANNEXE #1

Dendrogramme de nos souches de *S. aureus* isolées des Merguez (Hachemi et al., 2019)



ANNEXE #2

Liste des principaux facteurs de virulence et régulation par Agr d'après (Novick et al., 1993)

Facture de virulence	Gènes	Localisation	Fonction	Agr*	Référence
Superantigènes					
Entérotoxine A	<i>sea</i>	Phage	Intoxication alimentaires, TSS	0	Tremaine et al., 1993
Entérotoxine B	<i>seb</i>	SaPI3	Intoxication alimentaires, TSS	+	Gaskill and Khan, 1988
Entérotoxine C	<i>sec</i>	SaPI4	Intoxication alimentaires, TSS	+	Regassa et al., 1991
Entérotoxine D	<i>sed</i>	Plasmide	Intoxication alimentaires, TSS	+	Zhang et al., 1998
Exfoliatine A,	<i>eta</i>	Phage	Syndrome de la peau	+	Sheehan et al., 1992
Exfoliatine B	<i>etb</i>	plasmide	ébullantée		
TSST-1	<i>tst</i>	SaPI1,2	Syndrome du choc toxique	+	Recsei et al., 1986
Cytotoxines					
Hémolysine α	<i>hla</i>	Chromosome	Hémolyse, nécrose	+	Recsei et al., 1986
Hémolysine β	<i>hlb</i>	Chromosome	Hémolyse, nécrose	+	Recsei et al., 1986
Hémolysine δ	<i>hld</i>	Chromosome	Hémolyse, nécrose	+	Recsei et al., 1986
Hémolysine ν	<i>hlg</i>	Chromosome	Hémolyse, nécrose	+	Bronner et al., 2000
Leucocidines	<i>lukS/F</i>	Phage	Lyse des polynucléaires,	+	Bronner et al., 2000
Enzymes					
Sérine protéase	<i>splA-F</i>	Chromosome	Protéase	+	Said-Salim et al., 2003
Protéase V8	<i>sspA</i>	Chromosome	Diffusion	+	Arvidson and tegmark, 2001
Metalloprotéase, auréolysine	<i>aur</i>	Chromosome	Enzyme	+	Arvidson and tegmark, 2001
Protéase à cystéine	<i>sspB</i>	Chromosome	Enzyme	+	Arvidson and tegmark, 2001
Glycérol ester hydrolase	<i>geh</i>	Chromosome	Diffusion, nutrition	+	Said-Salim et al., 2003
Lipase	<i>lip</i>	Chromosome	Diffusion, nutrition	+	Chamberlain and Imanoel, 1996
Nucléase	<i>nuc</i>	Chromosome	Nutrition	+	Smeltzer et al., 1993
Coagulase	<i>cao</i>	Chromosome	Adhésion	-	Lebeau et al., 1994
Staphylokinase	<i>sak</i>	Phage	Activateur du plasminogène	+	Recsei et al., 1986
Protéines de surface					
Protéine A	<i>spa</i>	Chromosome	Adhésion, anti opsonisation	-	Recsei et al., 1986
Collagen binding protein	<i>cna</i>	Illet de pathogénie	Fixation	0	Blevins et al., 1999 ; Switalski et al., 1989
Fibronectin BPA	<i>fnbA</i>	Chromosome	Fixation	-	Jonsson et al., 1991
Fibronectin BPB	<i>fnbB</i>				
Clumping facteur A	<i>clfA</i>	Chromosome	Fixation	0	McAleese et al., 2001 ; McDevitt et al., 1994 ; Wolz et al., 1996
Clumping facteur B	<i>clfB</i>				
Polysaccharide de capsule type 5 et 8	<i>cap5</i> <i>cap8</i>	Chromosome	Anti-phagocytose	+	Sau and Lee, 1996 ; Thakker et al., 1998



ANNEXE #3

Caractéristiques majeures des entérotoxines staphylococciques (Rosec, 1999)

SE Type	ORF Length (bp)	Precursor lenght (aa)	Mature SE lenght (aa)	MW (kDa)	PI	Reference
A	774	257	239	27,100	7,3	(Betley et Mekalanos, 1985 ; Betley et Mekalanos, 1988)
B	801	266	239	28,336	8,6	Johns, Jr. et Khan, 1988
C1	801	266	239	27,531	8,6	Bohach et schlievert, 1987
C2	801	266	239	27,531	7,8	Bohach et schlievert, 1989
C3	801	266	239	27,563	8,1	Hovde et al.,1990
C (bovine)				27,618	7,6	Marrvet al., 1993
C (sheep)				27,517	7,6	Marrvet al., 1993
C (goat)				27,600	7,0	Marrvet al., 1993
D	777	258	228	26,360	7,4	Bayles et Iandolo 1989 ; Chang et Bergdoll, 1979
E	774	257	230	26,425	7,0	Couch et al., 1988
G	777	258	233	27,043	5,7	Munson et a ., 1998
H	726	241	218	25,210	5,65	Ren et al., 1994 ; Su et Wong, 1995
I	729	242	218	24,928	Nb	Munson et al., 1998
J	806	268	245	28,565	8,65	Zhang et al., 1998
K	729	242	219	25,539	6,5	Orwin et al., 2001
L	723 ¹	240	215	24,593	8,66	Fitzgerald et al., 2001
M	722 ¹	239	217	24,842	6,24	Jarraud et al., 2001
N	720 ¹	258	227	26,067	6,97	Jarraud et al., 2001
O	783 ¹	260	232	26,777	6,55	Jarraud et al., 2001
P	783	260	232	26 ,608	6,19	Kuroda et al., 2001 ; Omoe et al., 2005
Q	729	242	216	25.076	6,60	Diep et al.,
R	780	259	233	27,049	8,76	Omoe et al., 2003
U	783	261	232	27,192	6,20	Letertre et al 2003
U2	771	256	227	26,672	7,20	Thomas et al., 2006
V	720	239	217	24,997	6,07	Thomas et al., 2006

ANNEXE #4

Schéma des principales études utilisant le MALDI-TOF en routine (Carbonnelle, 2011)

Auteurs	Echantillons		Identification		Identification difficile
			Espèce	Genre	
Seng et al., 2009	Routine (n=1660)	Tous les prélèvements de routine	83,80%	95,00%	<i>Propionobacterium acnes</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> <i>Shigella</i> sp.
Blondiaux et al., 2009	Routine (n =362)	Tous les prélèvements de routine	72,90%	87%	<i>Streptococcus</i> du groupe <i>viridans</i> <i>Shigella</i> sp.
van Veen et al., 2010	Routine (n =980)	Tous les prélèvements de routine	92%	98,80%	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Bactéries anaérobies</i>
Bizzini et al., 2010	Routine (n=1371)	Tous les prélèvements de routine	93,20%	98,50%	<i>Shigella</i> sp. <i>Streptococcus</i> sp.
Gravet et al., 2010	Routine (n = 10 000)	Tous les prélèvements de routine	nd	98,80%	<i>Corynebacterium</i> sp. <i>Streptococcus</i> sp.
Bessède et al., 2010	Routine (n=1013)	Tous les prélèvements de routine	97,30%	99%	<i>Acinetobacter</i> sp. <i>Streptococcus pneumoniae</i>
Prod'hom et al., 2010	Sang (n = 126)	Hémocultures positives	77,80%	89,1 % S spp.	<i>Streptococcus mitis</i> group
La Scola et al., 2009	Sang (n = 599)	Hémocultures positives	76%	76%	<i>Streptococcus</i> sp. Échantillons polymicrobiens
Stevenson et al., 2009	Sang (n = 212)	Hémocultures positives (179) Flacons ensemencés (33)	80,20%	80,20%	<i>Streptococcus</i> du groupe <i>mitis</i> <i>Propionobacterium acnes</i>
Ferroni et al., 2010	Sang (n= 685)	Hémocultures positives (388) Flacons ensemencés (312)	89%	89%	<i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus</i> du groupe <i>mitis</i>
Christner et al., 2010	Sang (n = 277)	Hémocultures positives	94,20%	95%	Cocci Gram'
Ferreira et al., 2010	Sang (n = 300)	Hémocultures positives	42,60%	96,6 % S spp.	<i>Streptococcus mutans</i>
Moussaoui et al., 2010	Sang (n = 532)	Hémocultures positives	90,00%	nd	<i>Streptococcus</i> groupe <i>mitis</i> <i>Staphylococcus</i> sp.
Ferreira et al., 2010	Urine(n = 220)	Urine positive	91,80%	92,70%	<i>Streptococcus</i> sp. <i>Enterococcus</i> sp. <i>Raoultella</i> sp.



*LES COMMUNICATIONS
SCIENTIFIQUES*

IAFP EUROPEAN SYMPOSIUM ON FOOD SAFETY



IAFP'S EUROPEAN SYMPOSIUM
ON FOOD SAFETY



25-27 APRIL 2018 SWEDEN

25–27 APRIL 2018
Stockholm, Sweden

PROGRAMME

HELD AT THE BREWERY CONFERENCE CENTRE STOCKHOLM

ORGANIZED BY



International Association for
Food Protection®

WWW.FOODPROTECTION.ORG

P1-22 Simultaneous Detection of Coliforms and *Escherichia coli* Using a Combined Bioluminescent and Fluorescent Detection System

Paul Meighan¹ and BRANDON KATZ²

¹Hygiene, Guildford, United Kingdom, ²Hygiene, Camarillo, CA, USA

Introduction: This study introduces simultaneous detection of coliforms and *Escherichia coli* using a combination of bioluminescence and fluorescence biochemistries in a self-contained device.

Purpose: The simultaneous detection system for coliforms and *E. coli* is designed to make surface evaluation easier for food manufacturers by combining both detections in one simple device. The use of both indicator organisms can triage the likelihood for true faecal contamination in one test. The measurement of two samples in the same device also eliminates parallel sampling using two separate chemistries.

Methods: *E. coli* ATCC 8739 was grown in TSB overnight at 37°C and serially diluted in sterile diluent. 10 µL of dilutions -4, -5, -6, and a blank were added to a tube containing 500 µL selective enrichment media. Tubes were set up to be incubated for 6 h and read every 2 h using 500 µL of bioluminescent coliform detection reagent that was added, mixed, and read on a luminometer. If the relative light units are above a pre-set threshold, it signifies a presumptive positive for coliforms. The positive devices were incubated longer and visible green fluorescence measured using a 365 nm UV lamp indicating positivity for *E. coli*.

Results: All dilutions were detected using bioluminescence and fluorescence at 12 h. Limit of detection for coliform detection through bioluminescence in this study was 10³ CFU/mL with 6 h of incubation. The limit of detection for *E. coli* through fluorescence after confirmed coliform detection was 10³ CFU/mL at 10 h incubation.

Significance: The simultaneous detection of both coliforms and *E. coli* in a single system using two technologies offers an advantage in a food protection program. This means that food processors can act quickly and decisively to eliminate potential surface contamination and then react to the confirmation step for *E. coli*. With further work on media, this technology could be applied further for strain identification for Shiga toxin-producing *E. coli* using PCR.

P1-23 Population Genetic Structure of *Listeria monocytogenes* Strains Isolated from the Pig and Pork Meat Production Chain in France

BENJAMIN FÉLIX¹, Carole Feuer², Aurelien Maillet⁴, Laurent Guillier¹, E Boscher³, A Kerouanton³, S. Roussel¹ and Martine Denis³

¹ANSES, Laboratory for Food Safety, University of Paris-Est, Maisons-Alfort, France, ²IFIP, French Institute for the Pig and Pork Industry, Le Rheu, France, ³ANSES, Hygiene and Quality of Poultry and Pig Products Unit, University of Bretagne-Loire, Ploufragan, France, ⁴UMR 1014, Secalim, UBL, INRA, Oniris, Nantes, France

Introduction: *Listeria monocytogenes* is a pathogenic bacterium, transmissible through contaminated food consumption. The pork meat sector has been hit hard by *L. monocytogenes*-related outbreaks in France. Numerous studies have been carried out to investigate the genetic diversity of *L. monocytogenes* pork strains from food or some food factories, but never from the entire production chain.

Purpose: This study aims to identify the contamination routes of this bacterium through the global description of the strains' genetic diversity in the pork meat production chain.

Methods: We analysed the population genetic structure of 687 strains isolated over 20 years, throughout France and in three compartments: pig farming (PF), food processing environment (FPE), and finished food products (FFP). Clonal

complexes (CCs) were obtained by mapping the PFGE profiles of the strains. Their distribution was compared firstly between the three compartments, and then with CCs obtained from 1,106 strains isolated from other food production sectors.

Results: The major CCs were not equally distributed among the three compartments. CC37, CC59, and CC77 strains, rarely found in the FPE and FFP, were prevalent in the PF compartment. The two most prevalent CCs in the FPE and FFP compartments, CC9 and CC121, were rarely or not found in the PF compartment. No CC was exclusively associated with the pork sector. CC5, CC6 and CC2 were found in comparable proportions in all the sectors. The two most prevalent CCs in all the sectors were CC121 and CC9, but their distribution was disparate. CC9 was associated with meat products, while CC121 was not associated with a given sector.

Significance: The distribution of this ubiquitous bacterium appears largely influenced by steps in the production chain. This study provides indications on the ecological decline or success of *L. monocytogenes* population along the pig and pork meat production sector.

P1-24* A Pilot Study of Ultrasonication Pre-treatment and High-pressure Processing Affecting Microbial Inactivation and Colour Attributes of Liquid Whole Egg

ADRIENN TÓTH¹, Csaba Németh², Orsolya Pintér-Nagy³, József Surányi³ and László Friedrich¹

¹Szent István University, Budapest, Hungary, ²Capriovus Ltd., Szigetcsép, Hungary, ³SZIU, Budapest, Hungary

Introduction: Ultrasonic processing of a variety of liquids, drinks, and beverages has generated much interest, with published papers increasing within this area in recent years. A combination of ultrasonication and high-hydrostatic pressure could be used as a combined non-thermal, minimal processing technology for fluids.

Purpose: This work investigated the impact of ultrasound (US) pre-treatment combined with high-hydrostatic pressure (HHP) on colour and microbial inactivation in liquid whole egg (LWE).

Methods: Homogenized LWE was pre-treated with US (12.50±0.31 W and 55, 65, and 75% amplitude) for 30 min prior to HHP treatment (300 and 350 MPa, 5 min).

Results: Our results revealed that colour variation of LWE was statistically significant (one-way analysis of variance, $\alpha = 0.05$), but nevertheless colour difference ΔE_{ab} showed maximum visible differences. Increasing treatment parameters caused decreased microbial cell count; increased microbiological inactivation was significant and caused by different treatment parameters.

Significance: Summarising our results shows that US pre-treatment combined with HHP can provide a microbiologically safe product while protecting colour stability.

P1-25 The First Characterization of the Diversity of *Staphylococcus* Strains Using MALDI-TOF MS and Detection of MRSA Strains Isolated from Raw Sausage in Algeria

Amina Hachemi¹, Khatima AIT Oudhia¹ and JEAN-MARC ROLAIN²

¹Ecole Nationale Supérieure Vétérinaire, Algiers, Algeria, ²Aix-Marseille Université, Marseille, France

Introduction: Staphylococci, especially *Staphylococcus aureus*, is one of the most economically devastating types of foodborne bacteria, with high concern for public health and food safety. It has adjusted to all antimicrobial agents that have been developed, including developing resistance to methicillin.

Purpose: Our objective was to investigate the diversity of staphylococci species isolated from raw sausages in Algeria and their susceptibility against 16 antimicrobials, including B-Lactamines and Vancomycin, with a special search for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA).

Methods: Meat samples from 325 Algerian butchers were identified using MALDI-TOF MS and confirmed as MRSA by examining the presence of the *mecA* gene by PCR in real time and confirmed by PCR standard. Antibiotic resistance was determined by the antibiotics disk diffusion method.

Results: A total of 88 strains were identified by MALDI-TOF mass spectrometry. We have identified 71 strains of *Staphylococci*, including *S. saprophyticus* (24); *S. sciuri* (8); *S. xylosus* (6); *S. vitulinus* (3); *S. equorum*, *S. lentus*, *S. haemolyticus*, *S. gallinarum* with two strains each; and *S. warneri* (1). The rest represented *Macroccoccus caseolyticus* strains. The main spectrum projection dendrogram revealed four distinct clusters according to an arbitrary cut off at the distance level of 500. All *S. aureus* were severely resistant against B-Lactamines, as were *S. vitulinus*, *S. sciuri*, *S. xylosus*, and *S. equorum*. All *S. saprophyticus* strains were only severely resistant to oxacillin. There was no resistance to vancomycin. We also detected the *mecA* gene in five methicillin-resistant strains confirmed by PCR. Comparing our strains with previously confirmed human strains of *S. aureus*, results suggest human contamination.

Significance: The findings suggest that when present, *S. aureus*, and staphylococci in general, were considered a potential hazard for consumers and require enforcing hygienic practices. We aim to support the role of the human and animal as reservoirs of bacterial resistance, driving us to study staphylococci contamination of raw sausage from farm to fork.

P1-26 The Occurrence of Shiga Toxin-producing *Escherichia coli* and Antimicrobial Resistance in *E. coli* in Selected European Beef and Sheep Abattoirs

GRO S. JOHANNESSEN¹, Jannice Schau Slette-meås¹, Elin Røssvoll², Ole-Johan Røtterud³, Marianne Økland¹, Madelaine Norström¹, Camilla Sekse¹, Sogrun J. Hauge³, Ole Alvseike³ and Anne Margrete Urdahl¹

¹Norwegian Veterinary Institute, Oslo, Norway,

²Matmerk, Oslo, Norway, ³Animalia, Oslo, Norway

Introduction: Shiga toxin-producing *Escherichia coli* (STEC) and antimicrobial-resistant (AMR) *E. coli* are two zoonotic pathogens that may be transmitted through the meat production chain. It is important to have knowledge of the occurrence of these in abattoirs.

Purpose: The aim was to study STEC and AMR in selected European beef and sheep abattoirs.

Methods: A total of five composite carcass swab samples (before chilling) from each of 11 sheep slaughter lines in Norway, UK, and Spain, and nine for beef in Norway, Denmark, and Germany were analysed for STEC and AMR, giving a total of 100 samples. Samples were analysed for STEC using a modified ISO TS 13136, *stx*_{2A} using a specific real-time PCR, and for AMR using methods described by EURL-AR for extended spectrum cephalosporin-resistant (ESC) *E. coli* and carbapenemase-producing *E. coli* (CPE), and a selective method for the isolation of quinolone resistant *E. coli*.

Results: STEC from the “big five” serogroups were not isolated from any of the samples tested, but the majority of the samples were positive for one or more of the genes *stx*₁, *stx*₂, and *eae* in screening of the enrichment broths. *E. coli* harbouring *stx*_{2A} of unknown serotype were isolated from three cattle slaughter lines. *E. coli* resistant to quinolones were detected in 17 samples from six abattoirs. Preliminary results indicate that the resistance is due to chromosomal mutations, but for one isolate the MIC values for ciprofloxacin and nalidixic acid indicates plasmid-mediated resistance

mechanisms. Further, ESC- or CPE-resistant *E. coli* were not detected using selective methods.

Significance: The results suggest a low occurrence of STEC from the “big five” serogroups, and AMR *E. coli*. *E. coli* harbouring *stx*_{2A} genes were isolated, which may indicate potential for severe human infection. The presence of possible plasmid-mediated resistance is a challenge due to potential horizontal transfer to other bacteria.

P1-27 Prevalence and Location of *Listeria monocytogenes* Contamination on Beef Carcasses in Belgian Slaughterhouses

NIELS DEMAÏTRE¹, Koen De Reu¹, Lieven De Zutter², Annemie Geeraerd³, Geertrui Rasschaert¹ and Inge Van Damme²

¹Flanders Research Institute for Agriculture, Fisheries and Food (ILVO), Melle, Belgium, ²Ghent University, Faculty of Veterinary Medicine, Department of Veterinary Public Health & Food Safety, Merelbeke, Belgium, ³KU Leuven, Department of Biosystems, Division of MeBioS, Leuven, Belgium

Introduction: Despite the efforts already made by the sector, slaughterhouses are still confronted with the food-borne pathogen *Listeria monocytogenes* in the production environment and on carcasses. The presence of the pathogen on carcasses may result in contamination of the meat, which may lead to economic losses and a risk for public health.

Purpose: This study on the prevalence and location of *L. monocytogenes* on beef carcasses after slaughter should be the basis for a better understanding of the complex introduction, persistence, and variable contamination sources and routes of this pathogen.

Methods: The sampling of 90 carcasses was carried out in three beef slaughterhouses. A total of 720 carcass samples were taken just before cooling. *L. monocytogenes* was detected and enumerated according to ISO 11290. Carcass locations assumed to have an increased risk for contamination were swabbed. The eight following sites (400 cm² each) were sampled: pelvic duct, split surface of neck, inside throat region, hind leg (medial side), flank (medial side), brisket, inside foreleg, and shoulder region.

Results: *L. monocytogenes* was detected in 10% (71 of 720) of the swab samples. Overall, 47% (95% confidence interval from 36 to 57%) of the carcasses with a variation from 23 to 73% for the three slaughterhouses were found to be positive for *L. monocytogenes* for at least one of the eight sites. Among the different locations, the inside hind leg and the inside foreleg represented the highest contamination frequencies (13 and 12%, respectively). However, the contamination rate of the different sampling sites was not significantly different ($P > 0.05$). Across all samples, only five samples exceeded the lower limit of enumeration (above $-1.3 \log_{10}$ CFU/cm²).

Significance: The high prevalence of this pathogen highlights the need for identifying contamination sources and routes. The knowledge of the most contaminated carcass sites is useful in this context.

P1-28 Foodborne Pathogens: Inactivation in Protected Designation of Origin Coppa and Pancetta Piacentina during the Process and after High-pressure Processing

Paolo Daminelli, ELENA DALZINI, Elena Cosciani-Cunico, Paola Monastero, Enrico Pavoni and Marina Nadia Losio
IZSLER, Brescia, Italy

Introduction: Foodborne pathogens such as *Escherichia coli*, *Listeria monocytogenes*, and *Salmonella* spp. may occur in dry cured meat products via contaminated raw meat, ingredients, processing equipment, and/or as a consequence of post-processing contamination, and they have also been shown to survive during manufacturing processes.

ATTESTATION DE PARTICIPATION

13^{èmes} Journées Internationales des Sciences Vétérinaires
Sécurité alimentaire : Enjeux et Stratégies
Le **01 & 02** décembre **2018**

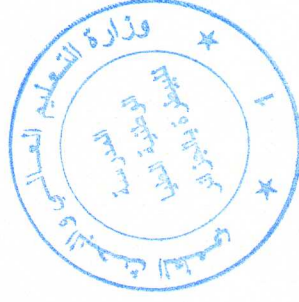
Je soussigné Pr BOUYOUCHEF Abdallah, président du comité d'organisation des 13^{èmes} Journées Internationales des Sciences Vétérinaires sur la sécurité alimentaire : Enjeux et Stratégies, atteste que :

Amina HACHEMI

a participé avec une communication orale, intitulée : « La première caractérisation de la diversité des espèces de Staphylococci isolées depuis des saucisses crues «Merguez» en Algérie, par MALDI-TOF MS».

Co-auteurs : Rolain J.M., Ait Oudhia K.

 Pr Bouyoucef A.

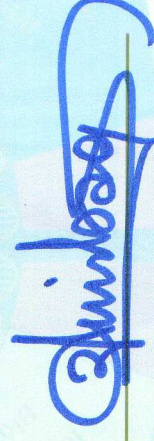


Eurasian Congress on Molecular Biotechnology (ECOMB 2019)
19-21 September 2019, Trabzon, Turkey

Presentation Certificate

AMINA HACHEMI

This Certificate is presented in recognition and appreciation
for your contribution to ECOMB 2019



Prof. Dr. Zihni DEMIRBAG, Chair

Communication Orale

ATTESTATION DE PARTICIPATION

Je soussignée Pr AISSI Meriem, présidente des 14^{èmes} Journées Internationales des Sciences Vétérinaires
sous le thème Pathologies infectieuses animales, atteste que :

HACHEMI Amina

a participé avec une conférence, intitulée :

« Epidemiological study of sausage in Algeria: The risk factors associated with consumer habits affecting foodborne poisoning ».

- Co-auteurs : ZENIA Safia , Ait-Oudhia Khatima ,

Pr AISSI M.

Présidente des 14^{èmes} JISV

16 NOV. 2019

